

UNTERSUCHUNGEN ZUR CHEMIE DER N-ACETYLNEURAMINSÄURE

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophischen Fakultät II
der Universität Zürich

von
Radomir Julina
von St. Gallen

Begutachtet von Herrn Prof. Dr. A. Vasella

Zürich 1988
Zentralstelle der Studentenschaft



UNTERSUCHUNGEN ZUR CHEMIE DER N-ACETYLNEURAMINSÄURE

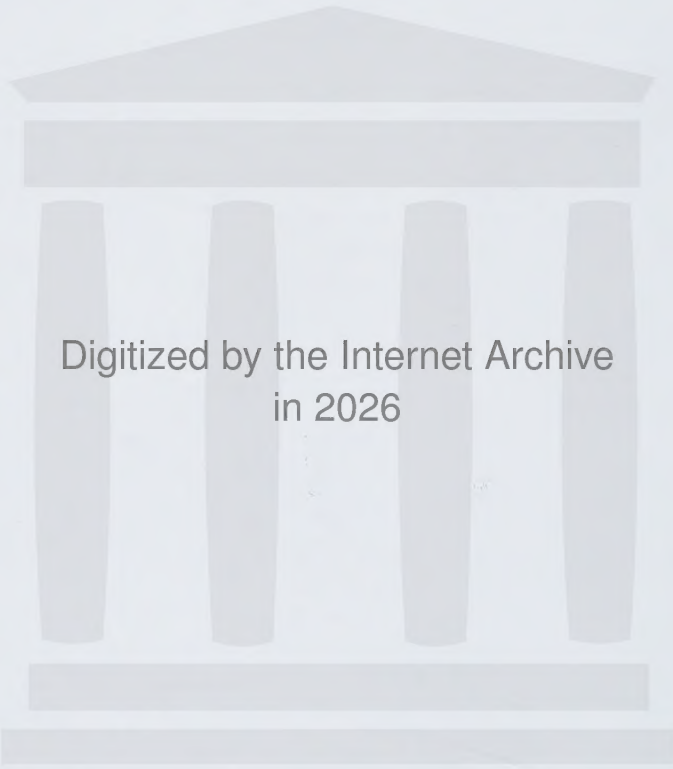
Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der
Philosophischen Fakultät II
der Universität Zürich

von
Radomir Julina
von St. Gallen

Begutachtet von Herrn Prof. Dr. A. Vasella

Zürich 1988
Zentralstelle der Studentenschaft



Digitized by the Internet Archive
in 2026

In Dankbarkeit meinen lieben Eltern gewidmet

Herrn Professor Dr. A. Vasella

danke ich für seine Unterstützung und die Freiheit, in der ich diese Arbeit ausführen durfte.

Danken möchte ich auch allen Kollegen und Mitarbeitern der Chemischen Institute für die vielen Hinweise, Ratschläge und Diskussionen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt den Servicelaboratorien des Organisch-chemischen Instituts für ihre rasche Ausführung meiner oft aufwendiger Spezialwünsche. Insbesondere danke ich den Herren U. Piantini und Dr. R.W. Kunz und Frau L. Wymann von der NMR-Abteilung und Herrn N. Bild und Frau Dr. A. Lorenzi von der MS-Abteilung für ihre Hilfeleistungen. Herrn B. Thueler danke ich für seine engagierte Unterstützung beim Einkauf von neuen Geräten.

INHALTSVERZEICHNIS

THEORETISCHER TEIL	1
1. Einleitung	1
1.1. Natürlich vorkommende Sialinsäurekonjugate und ihre biologische Funktion	1
1.2. Enzymatische Synthesen von Neu5Ac	3
1.3. Chemische Synthesen von Neu5Ac	5
1.4. Glycosidierungen von Neu5Ac	9
1.5. Spaltung von Neu5Ac- α -D-Glycosiden durch Sialidasen - Abhängigkeit der Sialidasewirkung von der Struktur der Neu5Ac	16
1.6. Synthesen von strukturell an C(4) modifizierten Sialinsäuren	27
2. Zielsetzung dieser Arbeit	30
3. Syntheseplanung	30
4. Herstellung der Edukte - Funktionalisierung von Neu5Ac-Glycalen	33
4.1. Eine modifizierte Synthese der N-Acetylneuraminsäure	33
4.2. Herstellung der 2,3-Dehydro-N-Acetylneuraminsäure 126 und des Oxazolins 116	35
4.3. Funktionalisierung an C(2) und C(3) der 2,3-Dehydro-N-Acetyl- neuraminsäure 126	37
5. Synthese der N-Acetyl-4-epineuraminsäure	41
6. Stereoselektive Deuterierungen an C(3) von N-Acetylneuraminsäure- und N-Acetyl-4-epineuraminsäure-methylglycosiden	48
6.1. Einleitung	48
6.2. Ergebnisse und Diskussion	49
7. Synthese der N-Acetyl-4-desoxyneuraminsäure	54
8. Versuche zur Synthese der N-Acetyl-4-desoxy-4-fluorneuraminsäure	62
8.1. Einleitung	62

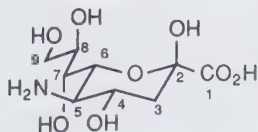
8.2. Ergebnisse und Diskussion	64
9. Stereoselektive Synthese von β -D-Glycosiden der N-Acetylneuramin- säure	71
9.1. Einleitung	71
9.2. Ergebnisse und Diskussion	72
 EXPERIMENTELLER TEIL	 80
1. Allgemeines	80
2. Herstellung der Edukte - Funktionalisierung von Neu5Ac-Glycalen	82
3. Synthese der N-Acetyl-4-epineuraminsäure	91
4. Stereoselektive Deuterierungen an C(3) von N-Acetylneuraminsäure- und N-Acetyl-4-epineuraminsäure-methylglycosiden	103
5. Synthese der N-Acetyl-4-desoxyneuraminsäure	106
6. Versuche zur Synthese der N-Acetyl-4-desoxy-4-fluorneuraminsäure	117
7. Stereoselektive Synthese von β -D-Glycosiden der N-Acetylneuramin- säure	126
 ZUSAMMENFASSUNG	 135
LITERATURVERZEICHNIS	138

THEORETISCHER TEIL

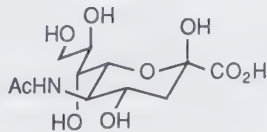
1. Einleitung

1.1. Natürlich vorkommende Sialinsäurekonjugate und Ihre biologische Funktion

Sialinsäuren stellen eine Familie von über 20 natürlich vorkommenden Derivaten der Neuraminsäure **1** (5-Amino-3,5-didesoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosonsäure) dar. Die (unstabile) unsubstituierte Neuraminsäure **1** kommt in der Natur nicht vor, wohl aber ihre N-Acetyl- und N-Glycolylderivate, die zudem an den Hydroxylgruppen in Stellung 4, 7, 8 oder 9 Methyl-, Acetyl-, Lactyl-, Sulfat- oder Phosphatgruppen tragen können [1, 2].



1



2

Sialinsäuren wurden im Zellmaterial der meisten höheren Tiere und in einigen Viren, Bakterien und Protozoen gefunden [2]. Einige Organgewebe oder ganze Spezies enthalten nur ein einziges Derivat der Neuraminsäure, in der Regel N-Acetylneuraminsäure **2**, während andere eine ganze Reihe von Neuraminsäurederivaten enthalten können. In der Natur kommen nicht glycosidierte Sialinsäuren nur in kleinen Mengen vor. In grösseren Mengen findet man sie hingegen glycosidisch gebunden als Bestandteil von Glycoproteinen, Polysacchariden und Gangliosiden. Als Komponenten von Mucinen (= Schleimen) werden Sialinsäuren ebenso in beträchtlichen Mengen ausgeschieden wie als Komponenten von Oligosacchariden



im Urin und in der Milch [1, 2]. Während die Sialinsäuren in Sialooligosacchariden fast ausschliesslich an das nicht-reduzierende Ende der Kohlenhydratkette gebunden sind, bilden sie in Kohlenhydratketten von Glycoproteinen und von Glycolipiden bevorzugt Verzweigungen. Am häufigsten sind Sialinsäuren mit Galactose oder mit N-Acetylgalactosamin verknüpft, seltener mit N-Acetylglucosamin oder mit anderen Sialinsäuren. Die häufigste Verknüpfungsart zwischen Sialinsäuren und anderen Kohlenhydraten ist die (2→3)- und die (2→6)-Glycosidbindung. In solchen Glycokonjugaten¹ sind die Sialinsäuren ausschliesslich α -glycosidisch an verschiedene Hydroxylgruppen des Aglycons gebunden. (Die einzige Ausnahme ist CMP-Neu5Ac 37, die β -D-konfiguriert ist, s. Kap. 1.4.)

Die weite Verbreitung von Sialinsäuren an terminalen und folglich sterisch zugänglichen (da weiter von der Zelloberfläche entfernten) Positionen von membran- gebundenen Glycokonjugaten und die starke Veränderung des Zellverhaltens nach enzymatischer Abspaltung der Sialinsäuren legen eine Beteiligung der Sialinsäuren an vielen Zellfunktionen nahe. So führt die Behandlung von Erythrocyten mit Sialidasen zur Abspaltung der Sialinsäuren vom Glycophorin A (einem Membranglycoprotein mit einem hohen Anteil an Neu5Ac) und damit zu einer drastischen Verkürzung der Erythrocytenlebensdauer [4, 5]. Die Asialoerythrocyten werden in der Leber schnell agglutiniert. Mit Hilfe der Carboxylatgruppe² komplexieren und transportieren sialinsäurehaltige Moleküle Alkali- und Erdalkaliionen und positiv geladene Molekülionen. Als Bestandteil von Gangliosiden in der Plasmamembran von Nervenzellen, insbesondere in der Region der Nervenenden und der Dendriten, sind die Sialinsäuren an der Bindung und Freisetzung von Neurotransmittern beteiligt [8, 9]. Der ionische Charakter der Sialinsäuren spielt ebenfalls beim Aggregationsverhalten der Zellen eine massgebliche Rolle. Sialinsäuren beeinflussen die Konformation von membrangebundenen Sialoglycoproteinen, die für eine korrekte Anordnung der Glycoproteinmoleküle in den Zellmembranen, für die Erhaltung der Aktivität von Glycoproteinenzymen und für die Resistenz von Glycoproteinen gegenüber Proteasen wichtig ist [10, 11]. Verschiedene N- und O-acylierte Sialoglycokonjugate wurden als antigene Determinanten identifiziert [12]. Sialinsäuren sind essentielle Komponenten von Rezeptoren, z.B. für Peptidhormone, Toxine, Viren und Mycoplasmen [13]. So werden die Grippeviren an die Zelloberfläche gebunden, indem die Sialinsäurereste der Rezeptormoleküle an der

¹ Als Glycokonjugate werden Moleküle bezeichnet, die aus einem Polysaccharidteil (Glycan) und aus einem Protein- oder Lipidteil (→Glycoproteine, Glycolipide) aufgebaut sind. Das Glycan ist mit dem Protein oder dem Lipid durch eine Glycosidbindung verknüpft [3].

² Als α -Ketosauren sind Sialinsäuren relativ starke Säuren, deren pK-Werte je nach Art der N- oder O-Substituenten zwischen 1.8 und 2.6 liegen [6, 7].

Zelloberfläche mit dem Haemagglutinin (einem membrangebundenen Protein) des Virus eine Bindung eingehen. Andererseits können Polypeptid- oder Oligosaccharidketten durch die Glycosidierung mit Sialinsäuren vor dem Abbau geschützt werden. Die *in vitro* Behandlung von Sialoglycoproteinen des Blutserums mit Sialidase führt zur Abspaltung der Sialinsäuren und damit zur "Freilegung" der vorher sialylierten Galactosen. Solche Asialoglycoproteine werden von den an der Zelloberfläche der Hepatocyten gebundenen galactosespezifischen Lectinen "erkannt", gebunden und durch die Hepatocyten abgebaut. Die Lectine sind gegen die sialylierten Glycoproteine völlig inaktiv [14]. Diese Eigenschaft als "biologische Maske" wird als eine der bedeutsamsten Funktionen der Sialinsäuren betrachtet [15].

Die biologischen Funktionen von Sialinsäuren haben ein grosses chemisches Interesse an dieser Substanzklasse geweckt. Zum besseren Verständnis dieser Funktionen wurden einige Synthesen von Sialinsäuren, ihren Analogen und Sialinsäureglycosiden ausgearbeitet. Nachfolgend werden die wichtigsten Ergebnisse auf diesem Gebiet zusammengefasst.

1.2. Enzymatische Synthesen von Neu5Ac

Biosynthetisch wird Neu5Ac **2** durch eine nucleophile Addition von Phosphoenolpyruvat (PEP) an N-Acetyl-D-mannosamin **3** oder N-Acetyl-D-mannosamin-6-phosphat **4** gebildet [1]. In Bakterien, wie z.B. *Neisseria meningitidis* [16, 17], verläuft die Biosynthese über das freie ManNAc unter der Katalyse von Neu5Ac-Synthetase (EC 4.1.3.19), während in tierischen Zellen die analoge Bindung ausschliesslich aus ManNAc-6-P **4** und PEP mit Hilfe der Neu5Ac-9-P Synthetase (EC 4.1.3.20) erfolgt [18-21] (Schema 1, a). Die Dephosphorylierung im Additionsprodukt **5** erfolgt anschliessend mit einer spezifischen, aus Human-Erythrocyten isolierten [22], Neu5Ac-9-P Phosphatase (EC 3.1.3.29). Eine Dephosphorylierung von **5** mit einer nichtspezifischen Phosphatase ist *in vivo* ebenfalls beobachtet worden [23].

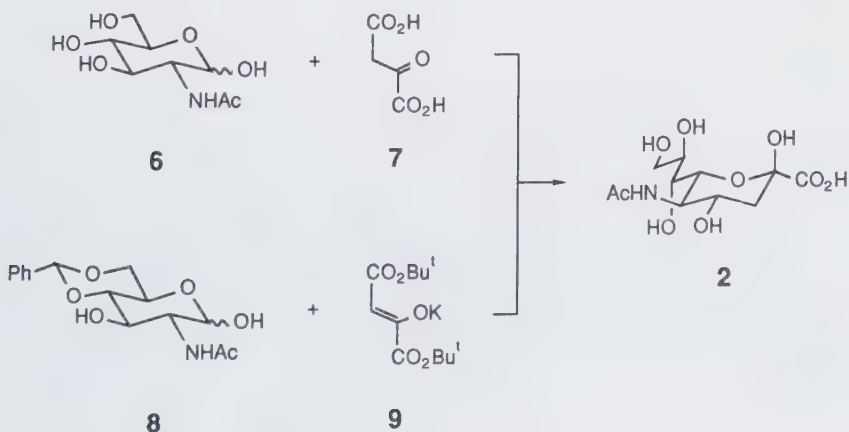
Auf der katabolischen Seite des Sialinsäuremetabolismus wird Neu5Ac durch das Enzym Acylneuraminat Pyruvat-Lyase (EC 4.1.3.3), einer Aldolase, in einer Retro-Aldol-Reaktion gespalten (Schema 1, b) [24, 25]. Das entstandene N-Acetyl-D-mannosamin wird u.a. zur Energiegewinnung weitermetabolisiert [26].

tisiert [32]. Durch Immobilisierung der Neu5Ac-Aldolase auf Agarose konnten Augé et al. [33] das immobilisierte Enzym nach der Reaktion zurückgewinnen und ohne wesentlichen Aktivitätsverlust bis zu drei mal wiedereinsetzen. In gleicher Weise wurde N,9-O-Diacetylneuraminsäure hergestellt [34]. Die MEEC-Methode (Membrane Enclosed Enzymatic Catalysis) von Whitesides et al. [35], bei der die Aldolase in einer Dialyse-Membran eingeschlossen wird, vereint die wesentlichen Vorteile der oben beschriebenen Methoden. Die Substratspezifität der Acylneuraminat Pyruvat-Lyase in Richtung der Aldolreaktion wurde eingehend untersucht [30, 33].

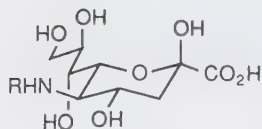
1.3. Chemische Synthesen von Neu5Ac

Die durch Acylneuraminat Pyruvat-Lyase katalysierte Aldol-Reaktion von ManNAc **3** mit Pyruvat wurde in einigen chemischen Synthesen von **2** nachgeahmt [36-40]. Die erste Synthese von **2** stammt von Cornforth et al. [36] und beruht auf einer basenkatalysierten Epimerisierung des leicht zugänglichen N-Acetyl-D-glucosamins **6** zu N-Acetyl-D-mannosamin **3** und dessen anschliessender Kondensation mit Oxalessigsäure **7**, einem synthetischen Äquivalent des Pyruvats. Kuhn und Baschang [37] verbesserten diese Synthese, indem sie 4,6-O-Benzyliden-N-Acetyl-D-glucosamin **8** mit dem K⁺-Salz des Oxalessigsäure-di-t-butylesters **9** umsetzten und nach saurer Aufarbeitung Neu5Ac **2** in einer Ausbeute von 30%, anstelle von 2% [36], erhielten (Schema 2).

Schema 2



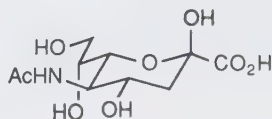
Die Synthesen von **2** nach Cornforth et al. [36] und Kuhn und Baschang [37] wurden mehrfach modifiziert [41, 42] und zur Herstellung von verschiedenen Sialinsäure-Analogen verwendet (**10** [43], **11**, **12** [44], **13** [45], **14**, **15**, **16** [46], **17** [47], **18** [29], **19** [38]).



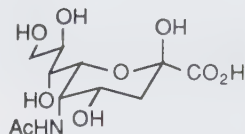
10 R = CO₂CH₂Ph

11 R = C(=O)Ph

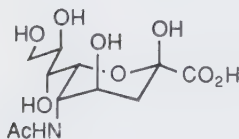
12 R = CO₂Et



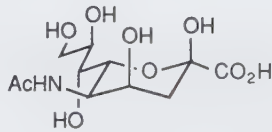
13



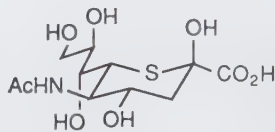
14



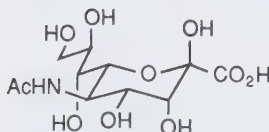
15



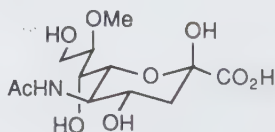
16



17



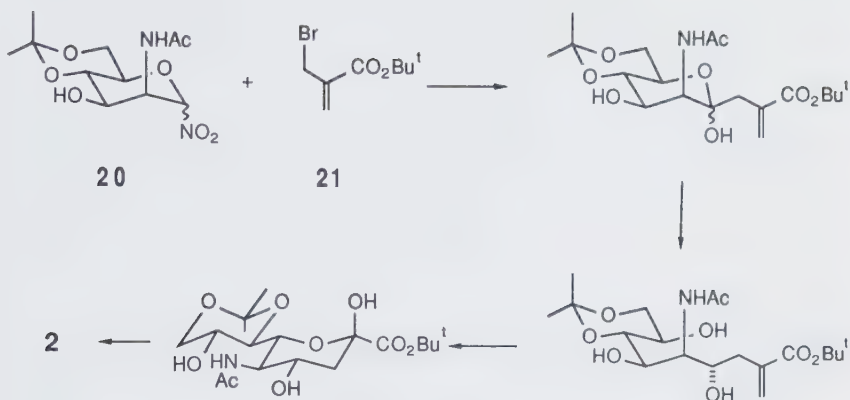
18



19

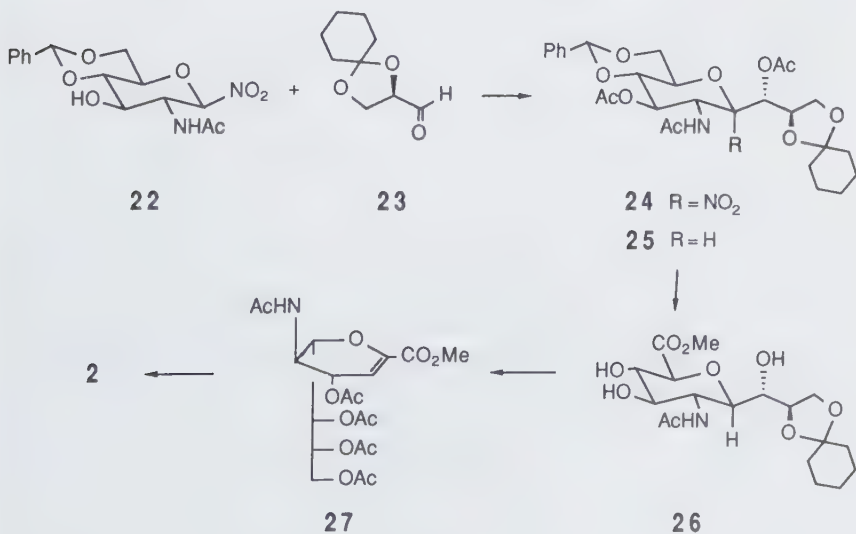
Analog dazu - Kettenverlängerung eines Mannosaminderivats an anomeren Zentrum um eine C₃-Einheit - konzipierten Baumberger und Vasella [39] ihre Neu5Ac-Synthese. Durch eine basenkatalysierte Michael-Addition des geschützten 1-Desoxy-1-nitrozuckers **20** an den Brommethacrylsäureester **21** wurde das C₉-Gerüst der Sialinsäure aufgebaut (Schema 3). Diese Synthese unterscheidet sich dadurch von derjenigen von Kuhn und Baschang [37], dass die Reaktivität der C₆- und der C₃-Einheit umgepolt wurde. Das synthetische Potential des Brommethacrylsäureesters **21** wurde von Hugener und Vasella [40] in einer weiteren C₆+C₃-Synthese demonstriert.

Schema 3



Eine "Umkehr" der C₆+C₃-Strategie liegt der dritten Synthese von **2** aus der Arbeitsgruppe von Vasella zugrunde [48]. Hatte bis anhin die C₃-Einheit das Kopfstück von **2**, die Kohlenstoffatome C(1)-C(3), dargestellt, so findet man sie jetzt in den Positionen 7, 8 und 9 wieder. Die Schlüsselreaktionen dieser Synthese sind

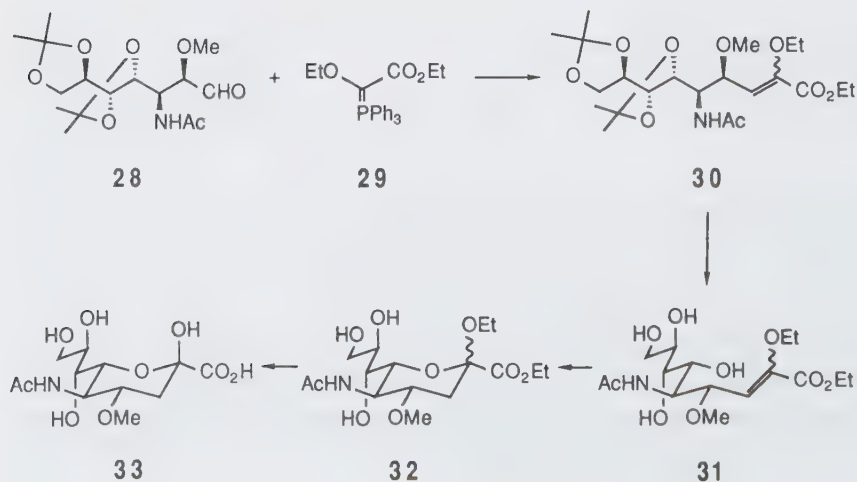
Schema 4



die Nitro-Aldolreaktion des 1-Desoxy-1-nitrozuckers **22** mit dem 2,3-O-Cyclohexyliden-D-Glycerinaldehyd **23**, die reduktive Denitrierung von **24** zu **25** und die Überführung des 2,3-Dehydro-Neu5Ac-Derivats **27** in **2** (Schema 4). Der Zweck dieser Synthesen besteht in der Erarbeitung der methodischen Grundlagen zur Herstellung von wahlweise an allen C-Atomen modifizierten Sialinsäure-Analogen.

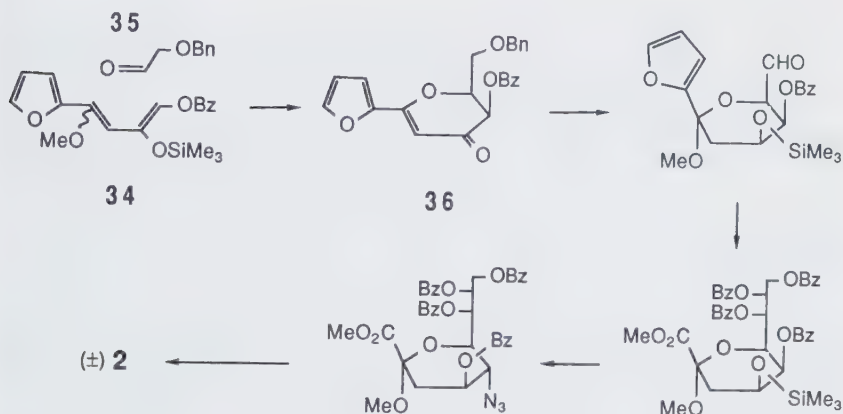
Nicht alle Synthesen von Neu5Ac beruhen auf dem C₆+C₃-Prinzip. Perry und Benzing-Nguyen [49] bauten das C₉-Gerüst von **2** stufenweise durch eine dreifache Homologisierung von N-Acetylmannosamin auf (2 x CH₃NO₂ gefolgt von der Nef-Reaktion, 1 x CN⁻). Schauer und Sinaý [50] entwickelten eine C₇+C₂-Synthese ausgehend von der D-glycero-D-galacto-konfigurierten Heptose **28**. Die Wittig-Reaktion von **28** mit dem Ylid **29** ergab den Enoläther **30** (30%) und das entsprechende 4-*epi*-Derivat (22%). Den Schlüsselschritt in dieser Synthese bildet die anschließende intramolekulare Zyklisierung von **31** zu **32** via eine Oxymerkurierung-Demercurierung. Saure Hydrolyse von **32** ergab das 4-O-Methyl-Derivat **33** (Schema 5, **28**→**33**, 14%). Das dieser Synthese zugrunde liegende Prinzip - Aufbau des Tetrahydropyranringes durch einen intramolekularen Ringschluss des entsprechenden offenkettigen Enoläthers - wurde zur Herstellung von Neu5Ac-Glycosiden angewendet (vgl. Kap. 1.4. [51]).

Schema 5



Alle oben beschriebenen Synthesen von Neu5Ac sind eindeutig als Partialsynthesen einzustufen, da sie von vorgegebenen Kohlenhydraten, wie z.B. GlcNAc, ausgehen. Die erste Totalsynthese von racemischer Neu5Ac **2** wurde 1986 von Danishefsky und DeNinno [52] vorgestellt (Schema 6). In dieser Synthese wird zunächst der die Kohlenstoffatome C(2)-C(6) umfassende Tetrahydropyranring von **2** aufgebaut. So ergab die Lewisäure-katalysierte Cycloaddition des Diens **34** mit 2-Benzyloxyacetaldehyd **35** das Pyron **36**, welches dann in mehreren Stufen in die racemische ($\pm$) **2** übergeführt wurde (Schema 6).

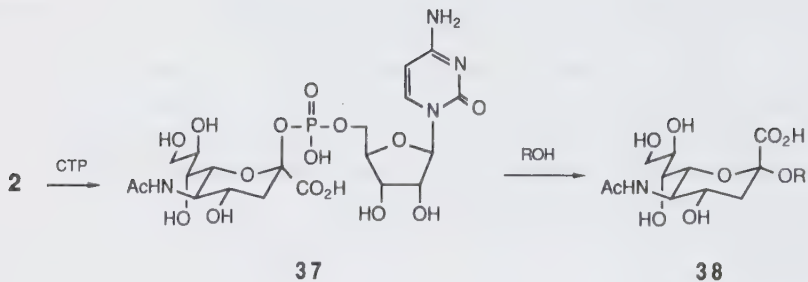
Schema 6



1.4. Glycosidierungen von Neu5Ac

Auf biosynthetischem Weg erfolgt die Glycosidierung von Sialinsäuren mit anderen Kohlenhydraten in zwei Stufen: In einem ersten Schritt wird Neu5Ac **2** mit Cytidintriphosphat (CTP) unter der Katalyse von CMP-Acylneuraminat Synthetase (EC 2.7.7.43) in die für die Glycosidierung aktivierte Cytidin-5'-monophospho-N-acetylneuraminsäure (CMP-Neu5Ac) **37** übergeführt. Mehrere substratspezifische Sialyltransferasen (EC 2.4.99.1) übertragen in einem zweiten Schritt Neu5Ac **2** von diesem Nucleotid auf die Oligosaccharide oder den Kohlenhydratteil von Glycoproteinen und Glycolipiden ($\rightarrow$ **38**, vgl. Schema 7).

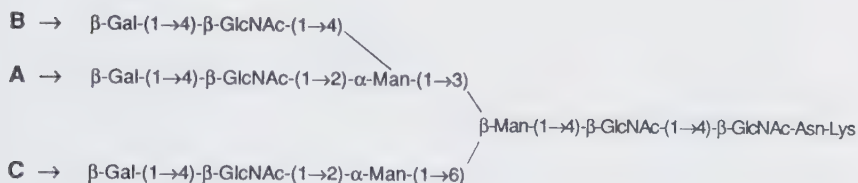
Schema 7



Nach ^{13}C -NMR-Untersuchungen liegt CMP-Neu5Ac **37** in der β -D-Konfiguration vor [53]. Damit ist **37** das bisher einzige bekannte, natürlich vorkommende β -D-konfigurierte Neu5Ac-Derivat, da sonst alle anderen natürlichen Neu5Ac-Derivate die α -D-Konfiguration aufweisen [2]. Es wurde deshalb die Vermutung geäussert, dass die unter Inversion der Konfiguration an C(2) erfolgende Übertragung von Neu5Ac **2** durch Sialyltransferasen vermutlich nach einem einstufigen $\text{S}_{\text{N}}2$ -artigen Mechanismus erfolgt [53, 54].

Eine grosse Anzahl von verschiedenen Sialyltransferasen wurde charakterisiert [2]. Diese Enzyme zeichnen sich oft durch eine sehr hohe Substrat-Akzeptor-Spezifität aus, so dass häufig für die Bildung der gleichen Glycosid-Bindung (z.B. α -Neu5Ac-(2 $\rightarrow$ 3)-Gal-) an verschiedenen Substraten auch verschiedene Sialyltransferasen benötigt werden [55]. Für die Sialylierung eines bestimmten Akzeptor-Moleküls ist nicht nur die nähere Umgebung der Glycosidierungsstelle von Bedeutung, auch (scheinbar) weit entfernte Struktureinheiten des Akzeptors können die Aktivität von Sialyltransferasen beeinflussen. Die Sialyltransferase aus der Schilddrüse von Kalb überträgt CMP-Neu5Ac **37** auf terminal gebundene Galactose in Glycoproteinen oder Glycolipiden. Das gleiche Enzym ist jedoch nicht in der Lage, Neu5Ac auf Galactose in so kleinen Molekülen wie Lactose zu übertragen [56]. Die Transferase aus dem Colostrum der Ziege sialyliert das Disaccharid β -Gal-(1 $\rightarrow$ 4)-GlcNAc 25 mal schneller als das entsprechende β -Gal-(1 $\rightarrow$ 6)-GlcNAc. Die Sialylierung von β -Gal-(1 $\rightarrow$ 4)-GlcNAc erfolgt 8 mal schneller als diejenige von β -Gal-(1 $\rightarrow$ 4)-Glc [57]. Die Fähigkeit von Sialyltransferasen, die "Feinstruktur" des Akzeptormoleküls zu erkennen, kann zudem zu einer eindeutigen Differenzierung zwischen mehreren möglichen und sehr ähnlichen Glycosidierungsstellen führen, was besonders bei verzweigten Glycan-Ketten von Glycoproteinen von grosser Bedeutung ist [58, 59].

Ein Beispiel für diese Differenzierung stellt die *in vitro* Sialylierung des triantennären Glycopeptids **39** mit der aus Rindercolostrum isolierten β -Galactosid- α -(2 $\rightarrow$ 6)-Sialyltransferase dar. Das Enzym zeigt eine hohe Selektivität für die terminale Galactose A, während die Galactose B (im Vergleich zu Gal A) nur zu etwa 10% und die Galactose C überhaupt nicht sialyliert wird [59].

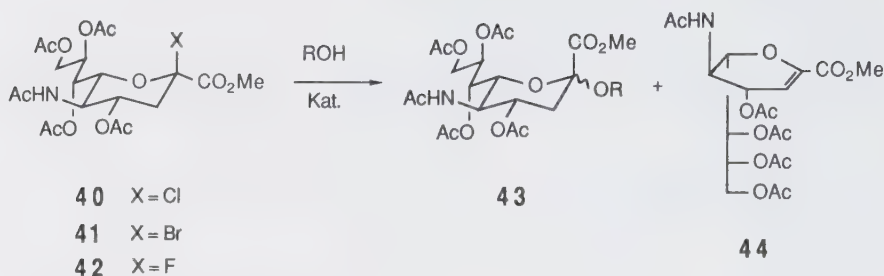


39

Die präparative Anwendung von Sialyltransferasen wurde von Paulson und Sabesan [60] in einer kombinierten chemischen und enzymatischen Synthese von Sialotrisacchariden demonstriert. Die Sialylierung der Methyl- und 5-(Methoxycarbonyl)pentyl-Glycoside von Lactose und N-Acetyl-lactosamin ergab je nach Transferase die entsprechenden α (2 $\rightarrow$ 3') und α (2 $\rightarrow$ 6') Sialotrisaccharide in Mengen von 10-20 μ mol und in Ausbeuten von 27-63%. Die breite Anwendung von Sialyltransferasen in der Glycosid-Synthese ist jedoch durch die beschränkte Zugänglichkeit der CMP-Acylneuraminat Synthetase (und damit des Nucleotids **37**) und der zahlreichen substratspezifischen Sialyltransferasen limitiert.

Im Vergleich zur Oligosaccharidsynthese von neutralen Kohlenhydraten [61] ist die stereoselektive chemische Synthese von Sialooligosacchariden aufgrund der kleinen Ausbeuten und der geringen Stereoselektivität ein nur sehr unbefriedigend gelöstes Problem [62-66]. In der Regel wird Neu5Ac **2** in die Glycosyl-Donoren **40**, **41** [67, 68] oder **42** [69] übergeführt und anschliessend mit (gegebenfalls selektiv geschützten) Glycosyl-Acceptoren (ROH) in Gegenwart von Lewisäuren (HgCN/HgBr₂, AgCO₃, Ag-Silikat oder AgOTf) glycosidiert ($\rightarrow$ **43**, Schema 8).

Schema 8

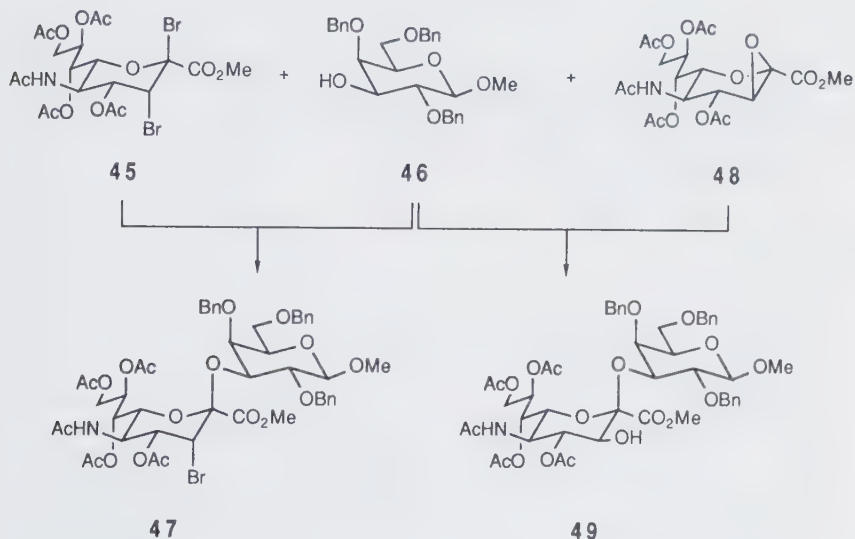


Die besten Ausbeuten an α -D-Glycosiden, die bei solchen Glycosidierungen erreicht werden, liegen bei 34% für die Verknüpfung mit Hydroxymethylgruppen ($\rightarrow\alpha(2\rightarrow6)$ -Glycoside [62]) und bei maximal 16% für die Verknüpfung mit den weniger reaktiven Hydroxymethylengruppen ($\rightarrow\alpha(2\rightarrow3)$ -Glycoside [70]). Es ist bekannt, dass Ketosen in der Regel schwieriger zu glycosidieren sind als Aldosen [61]. Bei den Neu5Ac-Glycosylhalogeniden **40** und **41** kommt hinzu, dass diese unter den Glycosidierungsbedingungen und insbesondere in Gegenwart von wenig reaktiven sekundären Hydroxyl-Komponenten sehr leicht HCl, bzw. HBr, abspalten. Das 2,3-Dehydro-Neu5Ac-Derivat **44** wird deshalb häufig als Hauptprodukt isoliert. Neben den gewünschten α -D-Glycosiden werden β -D-Glycoside in bis zu äquimolaren Mengen gebildet. Chromatographische Trennungen waren in allen Fällen notwendig. Die mangelnde Stereoselektivität bei der Glycosidierung von **40-42** ist darauf zurückzuführen, dass an C(3) von Neu5Ac **2** ein Substituent fehlt, der einen "stereodirigierenden" Einfluss auf die Glycosidierung ausüben könnte. Ungeachtet dieser geringen Ausbeuten sind die ersten Totalsynthesen der Ganglioside G_{M1} , G_{M2} [71], G_{M3} [64] und G_{M4} [72] unter Verwendung dieser Methoden durchgeführt worden.

Goto et al. [73-75] haben kürzlich neue Derivate von Neu5Ac **2** als Glycosyl-Donoren vorgestellt. Ausgehend von dem aus **2** in 3 Stufen (80%) gut zugänglichem 2,3-Dehydro-Neu5Ac-Derivat **44** wurden an C(3) nachbargruppenaktive Substituenten eingeführt, um die Stereoselektivität der Glycosidierung zu erhöhen. Nach der Glycosidierung wurden diese Hilfsgruppen reaktiv abgespalten. Die Bromierung von **44** mit Br_2 in CH_2Cl_2 oder mit *in situ* elektrochemisch hergestelltem Br_2 (NaBr, Pt-Pt-Elektroden) ergab das kristalline Dibromid **45** in 93-98% Ausbeute. Glycosidierungen von **45** mit Glycosyl-Acceptoren ergaben aufgrund der Nachbargruppenak-

tivität des axialen C(3)-Bromsubstituenten stereoselektiv β -D-Glycoside. Das Dibromid **45** wurde mit der selektiv geschützten Galactose **46** in 50% Ausbeute in das β -D-Glycosid **47** übergeführt (AgOTf, Na₂HPO₄, Benzol, Schema 9) [73]. Der axiale Brom-Substituent an C(3) von **45** verhindert die störende Eliminierung von HBr vollständig.

Schema 9



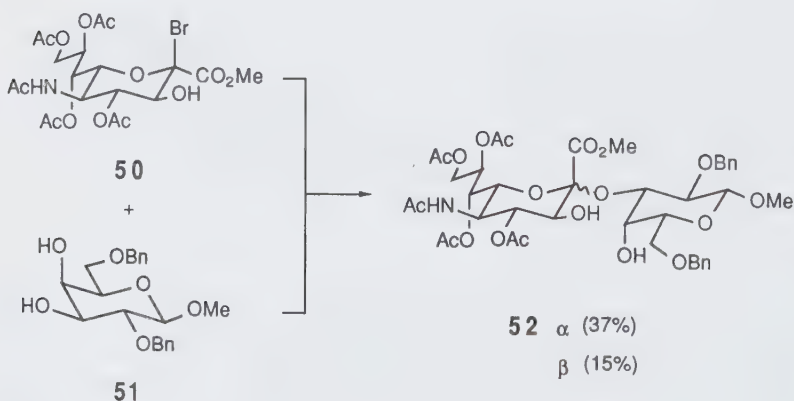
Ein ähnlicher Glycosyl-Donor ist das 2,3-Epoxid **48**³, das aus **44** in zwei Stufen und in einer Gesamtausbeute von 67% hergestellt wurde [74]. Eine Öffnung des β -orientierten 2,3-Epoxidringes von **48** in einer nucleophilen (S_N2-artigen) Addition von Glycosyl-Acceptoren an C(2) sollte zu α -D-Glycosiden führen. Die durch D-Campher-10-Sulfonsäure katalysierte Glycosidierung von **48** in MeOH ergab stereoselektiv das erwartete Methyl α -D-Glycosid in quantitativer Ausbeute. Eine analoge Glycosidierung von **48** mit 2 Äquivalenten MeOH (1,2-Dichloräthan, RT) lieferte hingegen nur ein Gemisch aus α - und β -D-Glycosid in 62%, resp. 29% Ausbeute. Die Umsetzung von **48** mit der selektiv geschützten Galactose **46** (TMSOTf, Na₂HPO₄, 1,2-Dichloräthan, -20°, 10 Min.) ergab aber stereoselektiv das β -D-Glycosid **49** (Schema 9, 64%). Die beobachtete Umkehrung der Stereoselektivität muss wohl auf die verschiedene Reaktivität der Hydroxyverbindungen und auf den

³ Das Epoxid **48** ist strukturverwandt mit dem Brigl-Anhydrid: 1,2-Anhydro-D-Glucose.

damit zusammenhängenden Übergang von einem S_N2 - zu einem S_N1 -artigen Glycosidierungsmechanismus zurückgeführt werden.

Sind mit dem 2,3-Dibromid **45** und dem 2,3-Epoxid **48** stereoselektive β -Glycosidierungen von Neu5Ac möglich, so konnten mit dem 3-Hydroxy-Glycosylbromid **50** als Glycosyl-Donor α -D-Glycoside in guten Ausbeuten ($\alpha(2' \rightarrow 6)$ -Glycoside: 64%, $\alpha(2' \rightarrow 3)$ -Glycoside: 24-37%) und mit guter Stereoselektivität hergestellt werden [75]. Das Bromid **50** ist aus **48** durch Umsetzung mit $TiBr_4$ zugänglich (98%). Die Glycosidierung von **50** mit dem Galactose-Derivat **51** ($AgOTf$, Toluol, $-15^\circ C$) ergab ein Gemisch aus dem α - und dem β -D-Glycosid **52** in Ausbeuten von 37%, resp. 15% (Schema 10). Die analoge Umsetzung von **50** mit einem in 3' und 4'-Stellung ungeschützten Lactose-Derivat lieferte das $\alpha(2 \rightarrow 3')$ -Glycosid in immerhin 24 und das β -D-Glycosid in 28% Ausbeute.

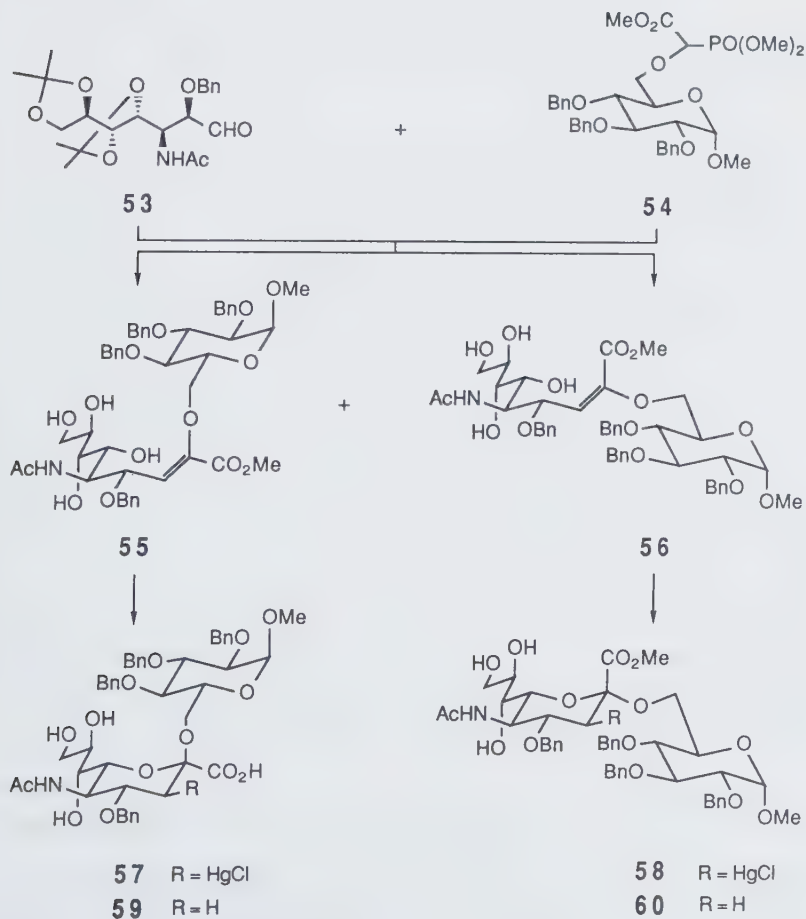
Schema 10



Paquet und Sinaÿ [51] haben 1984 eine stereokontrollierte intramolekulare Glycosidierungsmethode von Neu5Ac **2** beschrieben (Schema 11). Diese Methode beruht - wie die bereits beschriebene Synthese von 4-O-Methyl-Neu5Ac **33** (s. Kap. 1.3.) - auf einer intramolekularen Zyklisierung von offenkettigen Enoläthern, wobei der Ringschluss zum Tetrahydropyranring via eine Oxymerkurierung-De-merkurierung erfolgt. Die Umsetzung des D-glycero-D-galacto-konfigurierten Aldehyds **53** mit dem Phosphonat **54** unter Wittig-Horner-Bedingungen (THF, NaH, $0^\circ C$, 1h) ergab nach Abspaltung der Isopropyliden-Schutzgruppen (CF_3CO_2H/H_2O

9:1, 0°C, 30 Min.) die Enoläther **55** (48%) und **56** (24%). Die offenkettigen Enoläther **55** und **56** wurden dann in Gegenwart von $\text{Hg}(\text{OCOCF}_3)_2$ in das β -D-Glycosid **57** (80%) und in das α -D-Glycosid **58** (80%) übergeführt. Eine anschließende Demercurierung (Ph_3SnH , NaOAc) ergab die Glycoside **59** und **60** (je 90%). Da die Zyklisierungen der offenkettigen Enoläther stereoselektiv verlaufen, wird das Verhältnis der Glycoside ($\alpha:\beta$) durch das Verhältnis der in der Wittig-Horner-Reaktion gebildeten Enoläther (Z:E) bestimmt.

Schema 11



1.5. Spaltung von Neu5Ac- α -D-Glycosiden durch Sialidasen - Abhängigkeit der Sialidasewirkung von der Struktur der Neu5Ac

Die Hydrolyse (Glycosidspaltung) von α -D-Glycosiden von Sialinsäuren wird *in vivo* durch spezifische Enzyme, die Sialidasen (=Neuraminidasen), katalysiert. Sialidasen bilden eine grosse Gruppe von Enzymen, deren Verbreitung innerhalb einer Spezies, bzw. innerhalb der Organgewebe und deren Fähigkeit, eine grosse Anzahl von verschiedenen Neu5Ac-Glycosiden als Substrate zu erkennen, ihre wichtige Rolle im Sialinsäuremetabolismus unterstreichen [76]. Sialidasen wurden aus Viren, Bakterien, Protozoen und Pilzen und aus verschiedenen Organen von Säugetieren isoliert [2]. Bis heute wurden jedoch keine Sialidasen in pflanzlichen Zellen gefunden.

Innerhalb der Viren enthalten nur die Myxoviren Sialidasen (Myxoviren zeigen als einzige Viren eine Affinität zu Mucinen). Diese viralen Enzyme werden stets als membrangebundene Proteine gefunden. Sie können entweder durch milde Proteolyse [77] oder durch Behandlung mit Detergentien [78] in Lösung gebracht werden. Bakterielle Sialidasen kommen hingegen im Cytosol vor und werden häufig in grossen Mengen in das Kulturmedium sekretiert [79]. Sie sind induzierbar, wobei N-Acetylneuraminsäure **2** und ihre Derivate als Induktoren wirken [80]. Sialidasen wurden im Plasma verschiedener Zellen (Leukocyten [81], Hautfibroblasten [82, 83]) und in verschiedenen Organen (Gehirn, Leber, Niere, Milz [84], Herzmuskel [85], Augen [86], Plazenta [87]) gefunden. Tierische Sialidasen wurden bis heute nur wenig untersucht, da sie wie die viralen Sialidasen membrangebunden sind und durch Zellfraktionierung nur schwer zu isolieren sind. Viele der bekannten Sialidase-Aktivitäten wurden bis heute noch nicht im Detail untersucht und unser Wissen über diese Enzyme beschränkt sich auf eine kleine Gruppe von gut zugänglichen Enzymen meist bakteriellen oder viralen Ursprungs (*Vibrio cholerae*, *Clostridium perfringens* und *Arthrobacter ureafaciens*). Die meisten Informationen liegen über die Sialidase des Grippevirus vor, deren dreidimensionale Struktur mit Hilfe der Röntgenstrukturanalyse bestimmt wurde [88, 89].

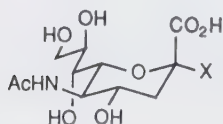
Die biologische Aufgabe der Sialidasen ist die hydrolytische Abspaltung endständiger, α -D-glycosidisch gebundener Sialinsäuren aus Oligosacchariden und Glycokonjugaten. Die Spaltungsgeschwindigkeiten sind vom physikalischen Zustand und von der Struktur des Substrats (Glycon + Aglycon) abhängig. Bei der Struktur spielt die Art der glycosidischen Bindung, die Derivatisierung der N- und O-Sub-

stituenten der Neuraminsäure **1** und das Aglycon eine wichtige Rolle. Strukturelle Änderungen der Neuraminsäure **1** üben deshalb einen grossen Einfluss auf die Aktivität von Sialidasen aus. Viele verschiedene Derivate und Analoge von **1** und ihren Glycosiden wurden hergestellt und auf ihre Sialidase-Aktivität getestet. Obwohl auf diese Weise sehr viele Einzelinformationen gesammelt wurden, ist der genaue Reaktionsmechanismus der Glycosidspaltung durch Sialidasen und die Beschaffenheit des aktiven Zentrums noch unbekannt. Nachfolgend werden die wichtigsten Ergebnisse, die zum heutigen Bild der Funktionsweise von Sialidasen beigetragen haben, kurz zusammengefasst (eine detailliertere Besprechung befindet sich in [2]).

Das anomere Zentrum - Alle bekannten Sialidasen werden dadurch charakterisiert, dass sie ausschliesslich α -D-Glycoside von Sialinsäuren hydrolysieren. Sialidasen sind vollständig inaktiv gegen β -D-Glycoside [67, 90]. Das einzige, natürlich vorkommende β -D-Glycosid der N-Acetylneuraminsäure, CMP-Neu5Ac **37**, ist kein Substrat für Sialidasen. Synthetische α -D-konfigurierte Thioglycoside **61**, **62** und **65** sind kompetitive Inhibitoren der Sialidasen aus *V. cholerae* [91] und *A. sialophilus* [92] (K_i -Werte (mM): **61**: 0.84, **62**: 0.23, **65**: 1.52). Die entsprechenden O-Glycoside und die N-Glycoside **63** und **64** werden hingegen von den gleichen Enzymen, wenn auch unterschiedlich rasch, gespalten [92]. Es ist bekannt, dass Glycosylamine kompetitive Inhibitoren der entsprechenden Glycosidasen sind [93]. So inhibiert das Glucosylamin die Glucosidase, nicht aber die Galactosidase, während das Galactosylamin die Galactosidase nicht aber die Glucosidase inhibiert. Das scheinbar atypische Verhalten der Sialidasen gegenüber N-Glycosiden wie **63** und **64** ist erwähnenswert. Die kinetische Spaltungskonstante k_{cat}/K_M beträgt für **63** 1.52×10^1 und für **64** 1.79×10^6 . Im Vergleich dazu wird für das sehr gute Sialidase-Substrat 4-Methylumbelliferyl-Neu5Ac- α -D-Glycosid ein Wert von 7.1×10^6 gefunden. Der Unterschied zwischen den Glycosylaminen und den N-Glycosiden **63** und **64** liegt primär in der deutlich geringeren Basizität der glycosidischen N-Atome in **63** und **64**. Das unterschiedliche Spaltungsverhalten ist vermutlich die Folge einer differenzierten Enzym-Substrat-Wechselwirkung und der obige Kontrast ist eher scheinbarer als wirklicher Natur. Zusammenfassend kann man festhalten, dass die Natur des Heteroatoms (O, S, N) in der Neu5Ac-Glycosidbindung nicht die Bindungsfähigkeit des Substrats an das Enzym beeinflusst; das Heteroatom wirkt sich hingegen auf die Grösse der Hydrolysekonstante aus [92].

Die ^1H -NMR-spektroskopische Verfolgung von enzymatischen Neu5Ac-Glycosidspaltungen hat gezeigt, dass die α -D-Glycoside unter Retention der Konfiguration

am anomeren Zentrum zunächst zu α -Neu5Ac gespalten werden [94-96]. Erst in einem zweiten Schritt findet die Mutarotation zum stabileren β -D-Anomeren statt. Konsistent mit diesem Befund ist die Beobachtung, dass *A. sialophilus* Sialidase in Gegenwart von MeOH in einer Transglycosidierungsreaktion Methyl- α -D-Glycoside synthetisiert [92].

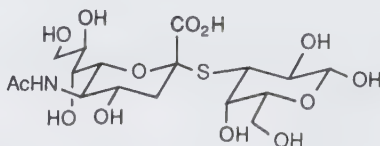


61 $X = \text{SCH}_3$

62 $X = \text{SC}_6\text{H}_4(\text{p-NO}_2)$

63 $X = \text{NHC}_6\text{H}_4(\text{p-NO}_2)$

64 $X = \text{N}_3$



65

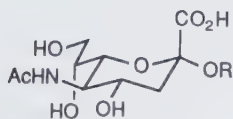
Die Carboxyl-Gruppe - Modifikationen an dieser funktionellen Gruppe, wie die Überführung in Ester [67], Amide **66** [97] oder prim. Alkohole **67** [98], geben Neu5Ac-Derivate, die weder Substrate noch Inhibitoren von Sialidasen darstellen. Der Einfluss der axialen Carboxylat-Gruppe auf die Funktion der Sialidase aus *Bifidobacterium lactentis* wurde demonstriert [99]: Durch Zugabe von Ca^{2+} -Ionen konnte die Enzymaktivität um bis zu 50% gesteigert werden, während sie in Gegenwart von EDTA entsprechend gehemmt wurde. Eine axiale Carboxylat-Gruppe ist damit für eine Substratbindung an das Enzym essentiell. Die Versuche, in das Aglycon oder an die N-Acetyl-Gruppe eine zusätzliche Carboxylat-Gruppe einzubauen (**68** + **69**) und damit die Bindung des Substrats zu beeinflussen, haben im Fall von **68** zu einer unveränderten, d.h. normalen, Sialidase-Spaltung (*V. cholerae*) geführt, während **69** nicht mehr gespalten wurde [100, 101]. Diese Beobachtung ist mit der Hypothese vereinbar, wonach bei den meisten Sialidasen das aktive Zentrum zwei unterschiedliche Bindungsstellen enthält: Eine hoch spezifische Bindungsstelle für Neu5Ac und eine wesentlich weniger spezifische Bindungsstelle für das Aglycon [92].

als die endständige Komponente eines Polysialoglycoproteins aus dem Laich der Regenbogenforelle (*Salmo gairdneri*) identifiziert [104]. Die Glycoside von **72** waren gegenüber *A. Ureafaciens* und *Streptococcus sp* Sialidasen interessanterweise resistent. Die Sialinsäure **72** schützt vermutlich auf diese Weise das Polysialoglycoprotein vor dem Abbau durch Sialidasen.

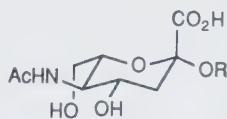
Die C-3-Seitenkette - Strukturelle Modifikationen in der C-3-Seitenkette von Neu5Ac können ebenfalls einen entscheidenden Einfluss auf die Sialidase-Aktivität ausüben. Die Kettenverkürzung um ein oder zwei C-Atome gab die C(8)- und C(7)-Neu5Ac-Analoga **73** und **74** [45], deren Glycoside von Sialidasen aus *V. cholerae* und *C. Perfringens* lediglich mit 30%, bzw. 5-10% der üblichen Neu5Ac-Aktivität gespalten wurden [105]. Die Oxidation der primären Hydroxyl-Gruppe an C(9) zur Nonulosarsäure **75**, die Kettenverlängerung um ein C-Atom zur Deculosarsäure **76** und der oxidative Abbau der Seitenkette zur Heptulosarsäure **77** lieferte andererseits Neu5Ac-Glycoside, die von den gleichen Sialidasen nicht mehr als Substrate erkannt wurden [97, 106]. Brossmer et al. [107, 108] haben die Hydroxyl-Gruppe an C(9) durch Heteroatome substituiert und beobachtet, dass das 9-Amino-9-desoxy-Neu5Ac-Glycosid **78** für die Sialidase aus *V. cholerae* kein Substrat darstellt, während die entsprechenden 9-Acetamido- und 9-Fluor-Neu5Ac-Glycoside **79** und **80** von diesem Enzym, wenn auch langsamer als Neu5Ac-Glycoside, gespalten werden. Der Unterschied der Sialidase-Aktivität gegenüber **78**, **79** und **80** ist deshalb bemerkenswert, weil die entsprechenden 9-Amino-9-desoxy-, 9-Acetamido-9-desoxy- und 9-Desoxy-9-fluor-N-Acetylneuraminsäuren gleich gut von CMP-Synthetasen aktiviert und von Sialyltransferasen auf das asialo- α_1 -Säure-Glycoprotein übertragen werden [107].

Verschiedene in der Seitenkette an C(7), C(8) und C(9) mono- oder polyacetylierte Sialinsäuren wurden als Komponenten von Oligosacchariden und Glycoproteinen isoliert [2]. Die wichtigste Funktion dieser Acetylgruppen besteht darin, die Glykokonjugate vor dem Abbau durch Sialidasen zu schützen [109]. Die O-Acetylierung der Seitenkette verringert, vermutlich als Folge einer Konformationsänderung der Seitenkette, die Substratbindung an das Enzym und damit die Hydrolysegeschwindigkeit der Sialidasen um ca. 50% [109]. Aus dem Seestern *Asterias Forbesi* wurde die N-Glycolyl-8-O-methylneuraminsäure **81** isoliert. Die Glycoside von **81** konnten von *V. cholerae* und *C. perfringens* Sialidasen nicht gespalten werden [110]. Demgegenüber ist die N-Acetyl-8-O-methylneuraminsäure **82** für die *Vibrio cholerae* Sialidase ein kompetitiver Inhibitor von vergleichbarer Größenordnung wie Neu5Ac (K_i (mM): **2**: 4.9, **82**: 3.6, [111]). Dieser Vergleich zeigt, dass die C(8)-Hy-

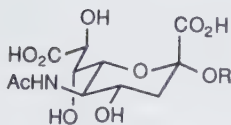
droxylgruppe im Gegensatz zum N-Substituenten vermutlich nur eine untergeordnete Rolle bei der Ausbildung des Enzym-Substrat-Komplexes spielt (Schema 12, S. 26).



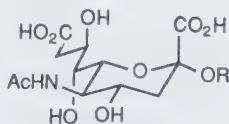
73



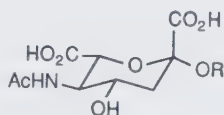
74



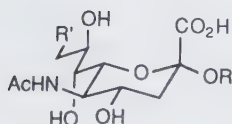
75



76



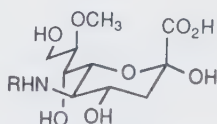
77



78 R' = NH₂, R = Glycoprotein

79 R' = NHAc, R = Glycoprotein

80 R' = F, R = Glycoprotein

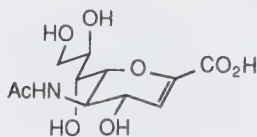


81 R = COCH₂OH

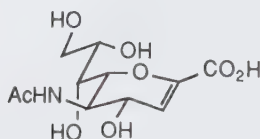
82 R = COCH₃

Die Bedeutung einer intakten und stereochemisch wohl definierten Seitenkette für die Substratbindung an Sialidasen wurde von Zbiral et al. [112] am Beispiel des kompetitiven Sialidase-Inhibitors **83** demonstriert. Die 2,3-Dehydro-N-acetylneuraminsäure **83** [113] und einige ihrer Derivate [103] werden als "Übergangszustandsanaloge" für Sialidasen betrachtet [114]. Bei der Spaltung von α -Neu5Ac-Glycosiden wird im Übergangszustand vermutlich eine Halbsessel-Konformation durchlaufen, die derjenigen von **83** sehr ähnlich ist [115] (vgl. Oxoniumion **C** in Schema 12). Damit stellen Derivate von **83** geeignete Modellverbindungen für die Aufklärung von Zwischenprodukt-Enzym-Wechselwirkungen, bzw. aufgrund der Ähnlichkeit von Zwischenprodukt und Übergangszustand von Übergangszustand-Enzym-Wechselwirkungen dar. Während die 2,3-Dehydro-8-*epi*-Neu5Ac **84** bei einer Substratkonzentration von 1 mM für die *Vibrio cholerae* Sialidase einen gleich guten Inhibitor wie **83** darstellt (90, resp. 92%), sinkt die Inhibierung bei der

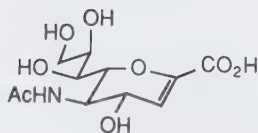
2,3-Dehydro-7-*epi*-Neu5Ac **85** auf 32% und bei der 2,3-Dehydro-7,8-bis-*epi*-Neu5Ac **86** sogar auf 12%. Diese Beobachtungen wurden mit Hilfe von NMR-Konformationsanalyse und "Hardsphere"-Berechnungen [116] dahingehend gedeutet, dass für die Bindung dieser Substrate an das Enzym primär die Topologie der "unteren" Seite (α -Seite) von Neu5Ac verantwortlich sei (vgl. Schema 12). Diese ist bei α -D-Glycosiden von Neu5Ac **2**, 2,3-Dehydro-Neu5Ac **83** und 2,3-Dehydro-8-*epi*-Neu5Ac **84** fast identisch. Im Fall von **85** und **86** verursacht die Konfigurationsänderung an C(7), resp. an C(7) sowie an C(8) eine Konformationsänderung der Seitenkette, was zum Verlust der optimalen Topologie führt. Als wichtige Bindungsstellen scheinen die der "unteren" Molekülseite (α -Seite) zugewandten Hydroxyl-Gruppen an C(4) und C(7) und die Carbonyl-Gruppe der Acetamido-Funktion zu dominieren [112]. Die Beispiele **82** und **84** zeigen, dass die Topologie der "oberen" Molekülseite (β -Seite) für die Bindung an das Enzym, mit Ausnahme der Umgebung um die Carboxylat-Gruppe, vermutlich weit weniger bedeutsam ist (vgl. Schema 12).



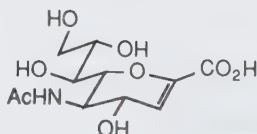
83



84



85

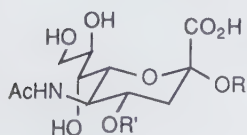


86

Stellung 4, O-Substitution - Bei der Spaltung von Neu5Ac- α -D-Glycosiden durch Sialidasen spielt die äquatoriale C(4)-OH-Gruppe von Neu5Ac **2** offenbar eine überragende Rolle. Die Derivatisierung dieser OH-Gruppe durch Acetylierung oder durch Methylierung ergibt die Derivate **87** [117] und **88** [118], die von bakteriellen Sialidasen nicht mehr gespalten werden. Virale Enzyme zeigen an **87** oder **88** eine zwar geringe aber signifikante Aktivität⁴. α -D-Glycoside von strukturell an

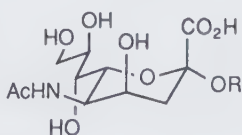
⁴ Eine Ausnahme bildet die Neuraminidase aus dem Hühnerpest-Virus, die das Glycosid **88** schnell spaltet [118].

C(4) abgeänderten Sialinsäuren, wie der N-Acetyl-4-epineuraminsäure **89** [39, 119], der N-Acetyl-4-desoxyneuraminsäure **90** [120, 121] und der N-Acetyl-4-oxo-neuraminsäure **91** [122], werden von bakteriellen und viralen Sialidasen ebenfalls kaum signifikant hydrolysiert. Das Methyl α -D-Glycosid von **91** stellt darüberhinaus für alle bakteriellen, viralen und tierischen Sialidasen einen kompetitiven Inhibitor dar [122]. Die wichtige Funktion der äquatorialen C(4)-OH-Gruppe für die Bindung des Substrats an den Rezeptor zeigt sich auch an den "Übergangszustandanalogen" und kompetitiven Sialidasehemmern **92** und **93**, die im Vergleich zu **83** die Sialidase aus *A. sialophilus* deutlich schwächer inhibieren (K_i (mM): **92**: 0.048, [123], **93**: 0.018, [124], **83**: 0.0016, [124]). Nach der Hypothese von Zbiral et al. [112] ist die äquatoriale Hydroxyl-Gruppe an C(4) neben der Hydroxyl-Gruppe an C(7) und der Acetamido-Gruppe für die Bindung des Substrats an das Enzym wichtig. Die Inhibierungsstudien mit den 6-Amino-6-desoxysialinsäuren **96-98** zeigen, dass dieses (einfache) Bindungsmodell, vor allem hinsichtlich der Funktion

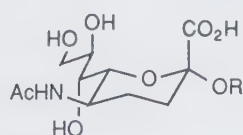


87 $R' = \text{Ac}$

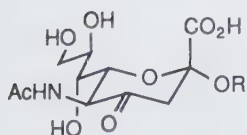
88 $R' = \text{CH}_3$



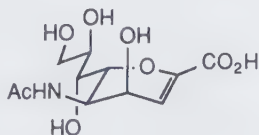
89



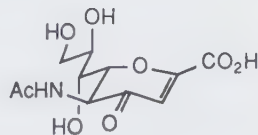
90



91



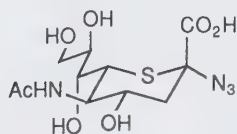
92



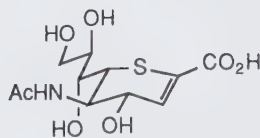
93

der C(4)-OH-Gruppe, einer Verfeinerung bedarf (vgl. weiter unten [125]). Es ist ferner unklar, ob die C(4)-OH-Gruppe als H-Brückendonator, als H-Brückenakzeptor oder vielleicht als beides an den Rezeptor gebunden ist. Diese Funktion der C(4)-OH-Gruppe liesse sich durch die Einführung eines polaren C(4)-Substituenten, der zwar ein H-Brückenakzeptor jedoch kein H-Brückendonator ist, abklären. Ideal für diese Untersuchung wären die α -D-Glycoside der N-Acetyl-4-desoxy-4-fluorneuraminsäure (Neu5Ac4F).

Position 6 - Mack und Brossmer [47] haben kürzlich die Synthese der 6-Desoxy-6-thio-N-acetylneuraminsäure beschrieben. Im Gegensatz zum ausgezeichneten Sialidase-Substrat **64** wurde das analoge 6-Thio-Glycosid **94** von Sialidasen nicht gespalten. Das Glycosid **94** erwies sich genau wie das 2,3-Dehydro-Analogon **95** als ein kompetitiver Inhibitor von Sialidasen.

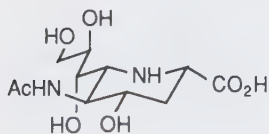


94

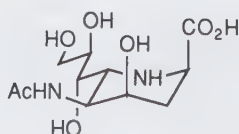


95

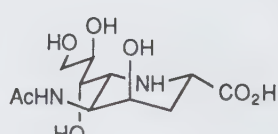
Baumberger und Vasella [125] haben die 6-Amino-2,6-didesoxysialinsäuren **96-98** hergestellt. Von diesen drei Analogen erwiesen sich **96** und **98** als effektive Inhibitoren der *V. Cholerae* Sialidase (K_i (mM): **96**: 0.12, **98**: 0.19), aber als schwache Inhibitoren von viralen Sialidasen. Die Verbindung **97** war inaktiv. Es wurde beobachtet [92], dass das 2-Desoxy-4-epi-Analoge **99** ein schwacher Inhibitor der *A. Sialophilus* Sialidase ist (K_i : 12.1 mM). Der Vergleich von **99** mit **98** zeigt den Einfluss des basischen C(6)-Substituenten. Es ist bemerkenswert, dass die C(4)-Epimeren **96** und **98** annähernd gleich gute Sialidasehemmer darstellen, während das Analog **97** völlig inaktiv ist. Diese im Hinblick auf die Rolle der Carboxylat-



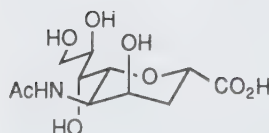
96



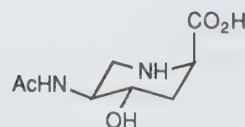
97



98



99



100

Gruppe scheinbar widersprüchliche Beobachtungen lassen sich mit dem im Schema 12 dargestellten Bindungsmodell vereinbaren, wenn man beachtet, dass die Analogen **96** und **98** mit ihrer äquatorialen Carboxylat-Gruppe dem Halbsessel-übergangszustand, der bei der Hydrolyse von Neu5Ac-Glycosiden durchlaufen wird (vgl. Oxoniumion **C** in Schema 12), vermutlich viel ähnlicher sind als das inaktive **97** mit der axialen Carboxylat-Gruppe. Die Konfiguration an C(4) spielt hier vermutlich nur eine sekundäre Rolle. Ein Hinweis hierfür könnte die nur sehr schwache Inhibierung bakterieller Sialidasen durch **100** sein (K_i (mM): 10, [126]).

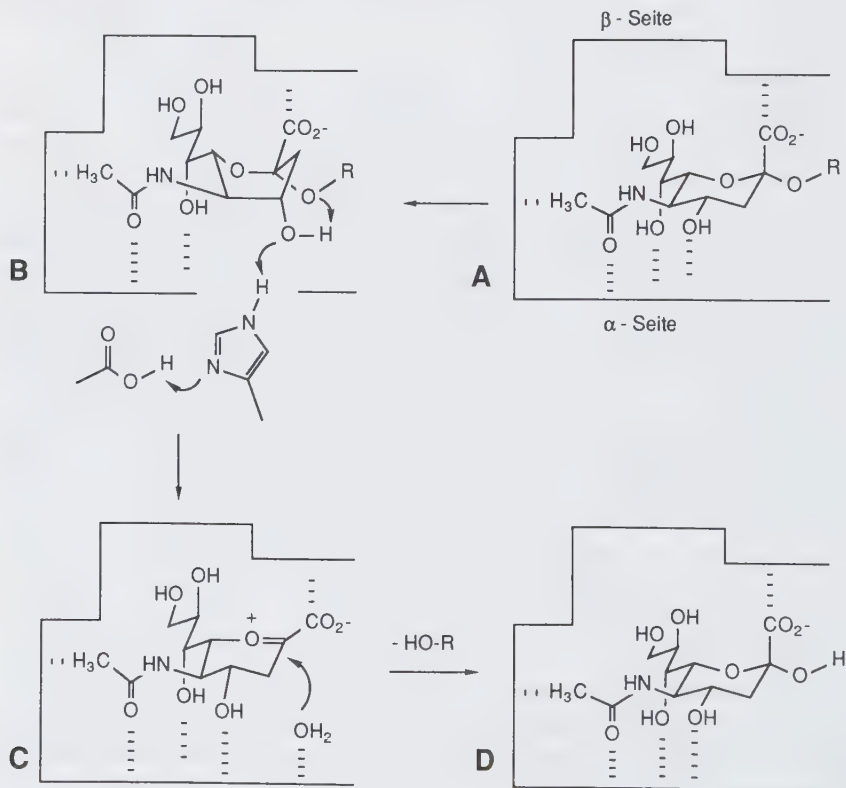
Zusammenfassung, Rezeptor, Hypothese - Die Ergebnisse der oben beschriebenen Aktivitätsstudien von Sialidasen mit einer grossen Anzahl von Substraten können in einem stark vereinfachten Modell des Neu5Ac-Rezeptors zusammengefasst werden (Schema 12): Der Rezeptor lässt sich bezüglich des Tetrahydropyranrings und bezüglich der glycosidischen Bindung des Substrats in eine α - und in eine β -Seite unterteilen. Das Substrat wird hauptsächlich durch vier funktionelle Gruppen an diese Seiten des Rezeptors gebunden: Auf der β -Seite durch die Carboxylat-Gruppe, auf der α -Seite durch die Hydroxyl-Gruppen an C(4) und C(7) und die Acetamido-Gruppe. Chemische Modifizierung dieser funktionellen Gruppen verhindert in der Regel die Bindung des Substrats an den Rezeptor. Die α -Seite des Rezeptors reagiert im Vergleich zur β -Seite viel empfindlicher auf strukturelle Änderungen am Substrat (vgl. **66-67**, **85-86**, **89-93**). Im Bereich der C₃-Seitenkette lässt die β -Seite des Rezeptors einen gewissen Spielraum für strukturelle Änderungen zu (vgl. **73-74**, **83**, **84**). Die Hydroxyl-Gruppen an C(8) und C(9) erfüllen vermutlich nur eine sekundäre Funktion. Ihre Aufgabe besteht vermutlich darin, die Konformation der C₃-Seitenkette durch die Ausbildung von Wasserstoffbrücken mit dem Rezeptor zu fixieren.

Die äquatoriale C(4)-OH-Gruppe spielt bei der Spaltung von Neu5Ac- α -D-Glycosiden eine sehr interessante und wichtige Rolle. Derivatisierung dieser funktionellen Gruppe oder chemische Modifikation an C(4) führt fast immer zum Verlust der Sialidase-Aktivität. Es stellt sich deshalb die Frage, ob die C(4)-OH-Gruppe nur für die Bindung des Substrats an das Enzym verantwortlich ist, oder aber, ob diese Gruppe aufgrund ihrer Nähe zum anomeren Zentrum am Mechanismus der Glycosidspaltung direkt beteiligt ist. Für den letzteren Fall kann man basierend auf den oben aufgelisteten Daten den im Schema 12 dargestellten Spaltungsmechanismus vorschlagen.

Für die enzymatische Spaltung der Glycosidbindung ist die Energiedifferenz ($\Delta G^\ddagger$)

zwischen dem Grundzustand und dem Übergangszustand des Substrats innerhalb des Rezeptors die entscheidende Grösse. Im Übergangszustand dürfte das Substrat eine Halbsesselkonformation einnehmen ähnlich derjenigen des Oxoniumions **C** im Schema 12. Diese Annahme stützt sich auf die Untersuchungen mit den Übergangszustand-Analogen wie **83**, die alle (unterschiedlich starke) Sialidasehemmer

Schema 12



sind (vgl. oben). Der Übergangszustand **C** könnte ausgehend vom Sessel **A** via das Boot **B** erreicht werden. Für die Konformationsänderung von der $^2\text{C}_5$ -Sesselkonformation zur $^{3,5}\text{B}$ -Bootkonformation müssen nach einer semi-empirischen Berechnung⁵ ca. 4.4 Kcal/Mol aufgewendet werden. Im Vergleich dazu benötigt die

⁵ Die semi-empirische Berechnung wurde mit dem Programm MOPAC (A General Molecular Orbital Package, QCPE Programm Nr. 464) von J.J.P. Stewart, University of Texas at Austin, durchgeführt.

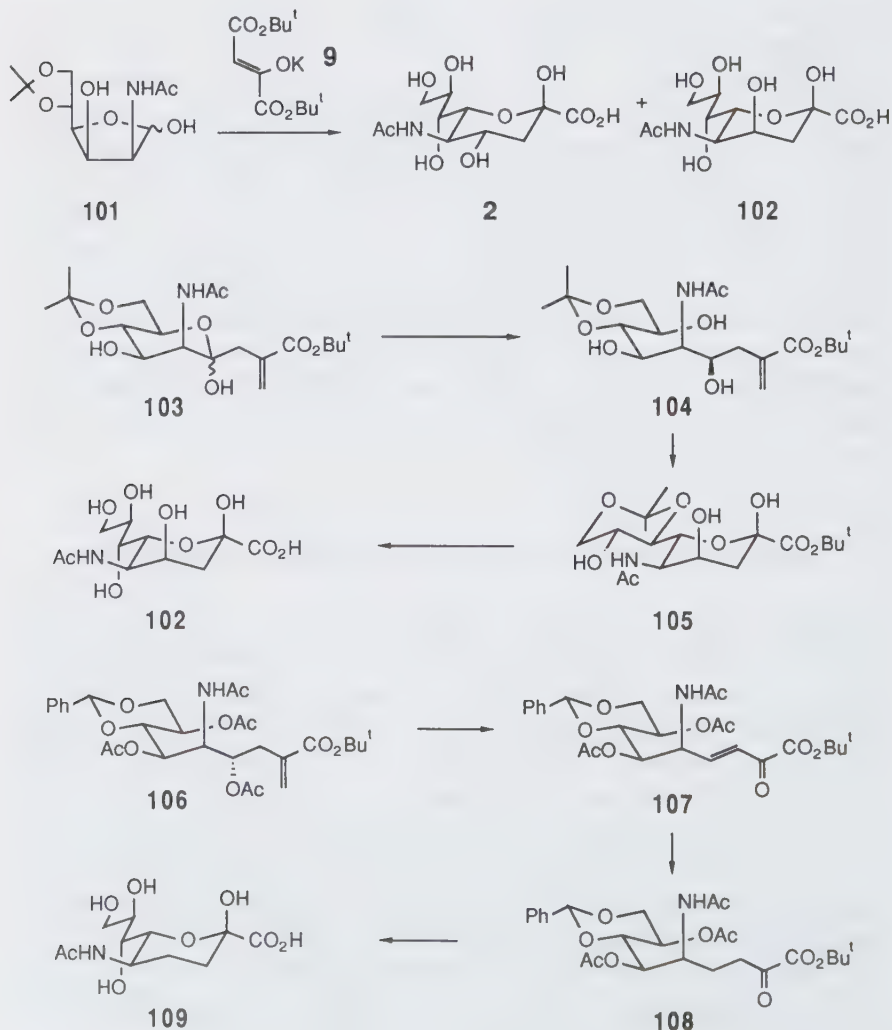
Sessel-Boot-Ringinversion im Cyclohexan 12 Kcal/Mol [127]. Der Grund für die gegenüber Cyclohexan deutlich niedrigere Energiedifferenz zwischen dem Sessel **A** und dem Boot **B** liegt in der Ausbildung einer starken Wasserstoffbrücke von 5.8 Kcal/Mol zwischen der C(4)-OH-Gruppe und dem glycosidischen O-Atom (vgl. Schema 12). Die Eliminierung dieser H-Brücke erhöht den ΔG -Wert auf 11.4 Kcal/Mol. Der für die Gasphase berechnete ΔG -Wert von 4.4 Kcal/Mol dürfte unter "realen" Bedingungen innerhalb der Enzymtasche durch stabilisierende Enzym-Substrat-Wechselwirkungen noch deutlich erniedrigt werden können. In der "reaktiven" Bootkonformation **B** gelangt die C(4)-OH-Gruppe in die unmittelbare Nähe der α -D-glycosidischen Bindung. Es wäre nun denkbar, dass die C(4)-OH-Gruppe - wie im Schema 12 dargestellt - Teil eines "Relaissystems" zur Protonierung des glycosidischen O-Atoms ist. Die Protonierung des glycosidischen O-Atoms via die C(4)-OH-Gruppe führt zur Spaltung der glycosidischen Bindung unter Ausbildung des Oxoniumions **C**. Eine anschließende H₂O-Addition an C(2) unter Retention der Konfiguration ergibt die α -Neu5Ac **D**, die nach dem Verlassen des aktiven Zentrums zum stabileren β -D-Anomeren anomerisiert. Die in diesem Kapitel diskutierten Untersuchungen an Neu5Ac-Glycosidanalogen sind mit diesem (hypothetischen) Spaltungsmechanismus gut vereinbar. Die ersten Ergebnisse zur Struktur des aktiven Zentrums von Sialidasen widersprechen der Hypothese dieses "Relaissystems" nicht. Es wurde gefunden, dass Histidin tatsächlich eine Komponente des aktiven Zentrums darstellt und in Übereinstimmung mit der obigen Hypothese in die Kavität der Enzymtasche hineinragt [88, 89].

1.6. Synthesen von strukturell an C(4) modifizierten Sialinsäuren

Die C(4)-OH-Gruppe spielt bei der enzymatischen Hydrolyse von Neu5Ac-Glycosiden eine wichtige Rolle (vgl. Kap. 1.5.). Verschiedene Synthesen von strukturell an C(4) modifizierten Sialinsäuren wurden beschrieben: Brossmer et al. [46] setzten in einer Aldolkondensation die Furanose **101** mit dem Kalium-Salz **9** in Gegenwart von Ni²⁺ als Katalysator um und erhielten neben Neu5Ac **2** (32%) die 4-*epi*-Neu5Ac **102** (10%, Schema 13). Die erste stereoselektive Synthese von **102** haben Baumberger und Vasella [39] vorgestellt. Diese Synthese beruht auf einer Modifikation der von diesen Autoren erarbeiteten Synthese von Neu5Ac **2** (vgl. Kap. 1.3.). Die stereoselektive NaBH₄-Reduktion der in einer Nitroaldolreaktion der 1-Desoxy-1-nitroaldose **20** mit dem Brommethacrylat **21** erhältlichen Nonulose **103** (vgl. Kap. 1.3.) ergab das D-glycero-D-talo konfigurierte **104** (95%; in Gegenwart von 2 Äquiv. HOAc ergibt die NaBH₄-Reduktion stereoselektiv das D-glycero-D-

galacto konfigurierte Produkt: vgl. Schema 3). Nach Ozonolyse ($\rightarrow$ **105**) und Entfernung der Schutzgruppen wurde die 4-*epi*-Neu5Ac **102** in einer Gesamtausbeute von 46% erhalten (Schema 13). Das gleiche Syntheseprinzip liegt der Synthese der 4-Desoxy-Neu5Ac **109** von Baumberger und Vasella [120] zugrunde. Ozonolyse von **106** in Gegenwart von NaHCO_3 und $(i\text{-Pr})_2\text{EtN}$ führte zum (E)-konfigurierten α,β -ungesättigten Ketoester **107**. Reduktion der olefinischen Doppelbin-

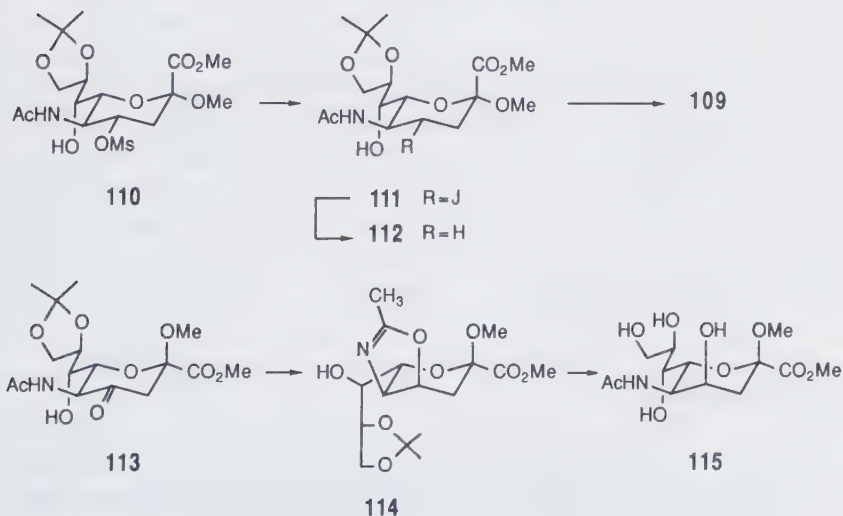
Schema 13



ung ($\rightarrow$ **108**, $\text{H}_2/\text{Pd-C}$) und Abspaltung der Schutzgruppen ergab die 4-Desoxy-Neu5Ac **109** (53% aus **106**).

Während Baumberger und Vasella für ihre Partialsynthesen von **102** und **109** eine Kettenverlängerung der Hexose **20** um eine C_3 -Einheit verwendeten (C_6+C_3 -Synthese, vgl. Kap. 1.3.), haben Brossmer [121] und Zbiral [128] **102** und **109** ausgehend von **2** durch Umwandlung von funktionellen Gruppen hergestellt (vgl. Schema 14). Ausgehend vom Mesylat **110** wurde das 4-Desoxy-4-iodderivat **111** durch eine nucleophile Substitution der C(4)-OMs-Gruppe mit NaJ in 20% Ausbeute erhalten [121]. Aufgrund der Beteiligung der C(5)-Acetamido-Gruppe verläuft diese Substitution an C(4) unter Retention. Die Hydrogenolyse von **111** ergab das 4-Desoxyderivat **112** (84%), das in **109** übergeführt wurde. Brandstetter und Zbiral [116] haben die C(4)-OH-Gruppe im β -D-Anomeren von **110** mit Pyridiniumchloroformat (PCC) regioselektiv zur 4-Oxoverbindung **113** (50%) oxidiert. Die Umwandlung von **113** in das Oxazolin **114** gelang mit Hilfe von Triphenylphosphin/ Azodicarbonsäure-diethylester (TPP/ DEAD). Verbindung **114** liess sich durch saure Hydrolyse in **115** überführen (90%).

Schema 14



EIGENE ARBEITEN

2. Zielsetzung dieser Arbeit

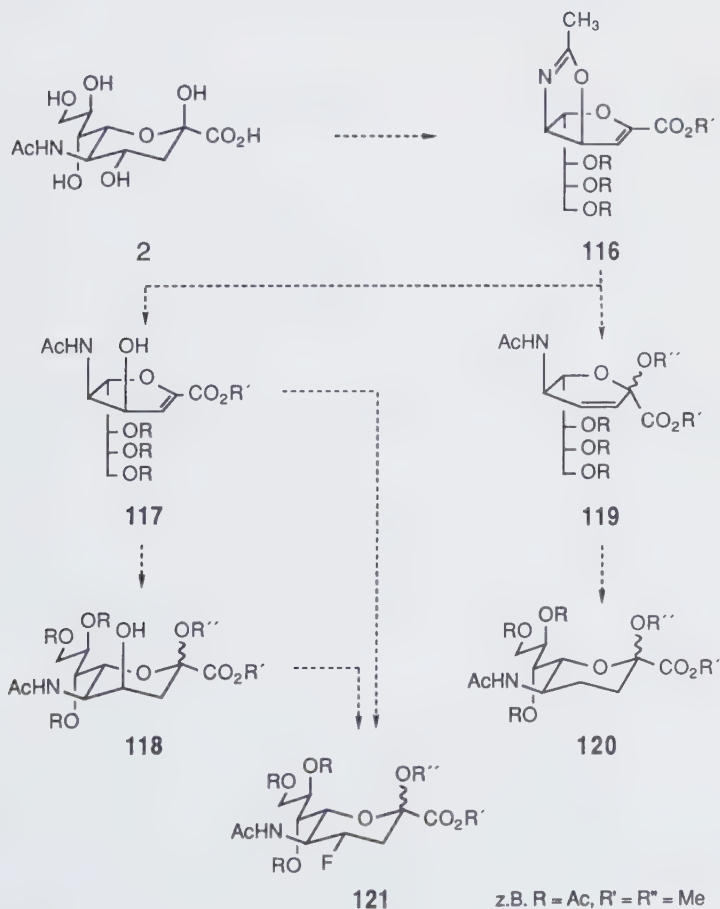
Im Kap. 1.5. wurden die Einflüsse von strukturellen Änderungen an Glycosiden der N-Acetylneuraminsäure **2** auf die Aktivität von Sialidasen diskutiert. Die äquatoriale Hydroxyl-Gruppe an C(4) von Neu5Ac **2** spielt bei der enzymatischen Spaltung der glycosidischen Bindung eine zweifelsohne wichtige, jedoch weitgehend noch unbekannte Rolle. Für ein besseres Verständnis der Funktion dieser OH-Gruppe im Verlauf der enzymatischen Hydrolyse werden an C(4) abgeänderte Analoge von Neu5Ac und deren Glycoside benötigt. Von besonderem Interesse sind dabei die Glycoside der 4-*epi*-Neu5Ac **102**, der 4-Desoxy-Neu5Ac **109** und der 4-Desoxy-4-fluor-Neu5Ac **198** (vgl. Kap. 1.5.). Für die Glycosidsynthese von Sialinsäuren werden aufgrund der kleinen Ausbeuten und der geringen Stereoselektivität im Glycosidierungsschritt grössere Mengen an Neu5Ac **2** oder ihren Analogen benötigt. Die im Kap. 1.6. zusammengefassten, heute bekannten Partialsynthesen von Neu5Ac-Analogen bestehen aus einer grossen Anzahl von Syntheseschritten und ihre Gesamtausbeuten sind niedrig. Die vorliegende Arbeit setzte es sich zum Ziel, ausgehend von Neu5Ac **2** durch Umwandlung von funktionellen Gruppen einen alternativen und effizienteren synthetischen Zugang zu diesen Analogen zu finden. In einem zweiten Teil sollte eine modifizierte Königs-Knorr Glycosid-Synthese von Neu5Ac **2** und ihren Analogen entwickelt werden, um bisher unbekannte Glyco-konjugat-Analoge, insbesondere von Gangliosiden, für die oben erwähnten Enzymstudien zur Verfügung stellen zu können.

3. Syntheseplanung

Die Synthese der Neu5Ac-Analogen 4-*epi*-Neu5Ac **102**, 4-Desoxy-Neu5Ac **109** und 4-Desoxy-4-fluor-Neu5Ac **121** wird idealerweise von einem gemeinsamen Zwischenprodukt ausgehen, das aus **2** leicht zugänglich sein muss (Schema 15). Als ein derartiges zentrales Zwischenprodukt könnte sich das bekannte Oxazolin **116** eignen [123, 129]. Verbindung **116** entsteht aus dem Pentaacetat von **2**

durch Behandlung mit Säure (2-4%). Als Hauptprodukt wurde dabei ein Gemisch aus dem peracetylierten Derivat von **117** (40%) und dem entsprechenden 4-*epi*-Analogen (41%) beschrieben. Die Umsetzung dieses Gemisches mit $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$ /MeOH ergibt **116** in 66% Ausbeute [129]. Saure Hydrolyse des Oxazolins **116** führt zum selektiv geschützten 2,3-Dehydro-4-*epi*-Neu5Ac **117** (88%) [129]. Eine "Umfunktionalisierung" des Glycals **117** an C(2) und C(3) durch Addition von O-Nucleophilen an C(2) würde die gewünschten 4-*epi*-Neu5Ac Glycoside **118** geben.

Schema 15



2-Acetamido-2-desoxypyranosen lassen sich leicht in entsprechende Oxazoline überführen. Solche Oxazoline wurden in der Kohlenhydratchemie in Glycosid-Synthesen eingesetzt [61], da sie in Gegenwart von Protonen- oder Lewissäuren mit Nucleophilen zu 2-Acetamido-2-desoxyglycosiden geöffnet werden können. Das zu solchen Oxazولين vinyloge Oxazolin **116** könnte analog unter Verschiebung der Doppelbindung von C(2)-C(3) nach C(3)-C(4) und Addition eines O-Nucleophils an C(2) reagieren (**116**→**119**). Die nachfolgende Reduktion der olefinischen Doppelbindung würde direkt zu 4-Desoxy-Neu5Ac-Glycosiden **120** führen.

Die Synthese von 4-Desoxy-4-fluor-Neu5Ac könnte schliesslich von den 4-*epi*-Derivaten **117** oder **118** ausgehen. Eine unter Inversion ablaufende selektive Fluorierung an C(4) würde die gewünschten 4-Desoxy-4-fluor-Glycoside **121** geben.

4. Herstellung der Edukte - Funktionalisierung von Neu5Ac-Glycalen

Bevor die Synthesen der Neu5Ac-Analogen **102**, **109** und **121** (vgl. Kap. 2.) begonnen werden konnten, mussten folgende Teilprobleme gelöst werden: 1. Entwicklung einer effizienten Synthese von Neu5Ac **2** in Multigrammengen, 2. Überführung von Neu5Ac **2** in das Oxazolin **116** (Schema 15) und 3. Ausarbeitung einer Methode zur Umfunktionalisierung von Neu5Ac-Glycalen an C(2) und C(3).

4.1. Eine modifizierte Synthese der N-Acetylneuraminsäure

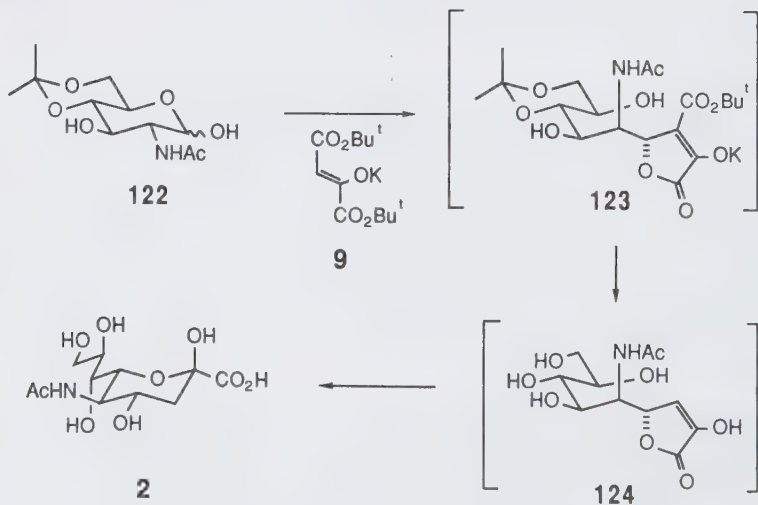
Für die vorliegende Arbeit wurden grössere Mengen von N-Acetylneuraminsäure **2** benötigt. Die zweistufige Synthese von Neu5Ac **2** aus 4,6-O-Benzyliden-N-Acetyl-D-Glucosamin **8** und dem Kalium-Salz des Oxalessigsäure-ditert.-butylesters **9** nach Kuhn und Baschang (s. Kap. 1.3, Schema 2, [KUH]) ist heute noch eine der effizientesten Methoden zur Herstellung von **2** in Grammengen. Diese Methode ist aber aufgrund der schlechten Löslichkeit von 4,6-O-Benzyliden-D-GlcNAc **8** im Reaktionsmedium (Dioxan/MeOH 1:1) für grössere Ansätze (≥ 1 mol) wenig geeignet.

Holmquist [42] beschreibt in einer Variante der obigen Synthese die Herstellung von 7,9-O-Äthyliden-Neu5Ac ausgehend von N-Acetyl-4,6-O-äthyliden-D-glucosamin und dem Kalium-Salz **9**. Die Löslichkeit des eingesetzten Äthyliden-Derivats ist im Reaktionsmedium (Dioxan/MeOH 1:1) deutlich höher als jene des entsprechenden Benzyliden-Derivats. Die Äthyliden-Schutzgruppe erwies sich aber gegenüber der sauren Hydrolyse als stabil. Eine Abspaltung erfolgte erst unter scharfen Bedingungen (100°C , 3h), was in Anbetracht der Instabilität von **2** gegenüber sauren Reaktionsbedingungen zu einer drastischen Reduktion der Ausbeute führte ($30\% \rightarrow 10\%$).

Es ist bekannt, dass 4,6-O-Isopropyliden-geschützte Pyranosen wesentlich säurelabiler sind als die entsprechenden Benzyliden- oder gar Äthyliden-Acetale. Das 4,6-O-Isopropyliden-N-Acetyl-D-glucosamin **122** ist in einer Stufe und in 75% Ausbeute aus dem N-Acetyl-D-Glucosamin zugänglich [130]. Analog zu der Vorschrift von Kuhn und Baschang [37] wurde die Verbindung **122** mit dem Kalium-Salz **9** zu **123** umgesetzt (Schema 16). Das 4,6-O-Isopropyliden-Derivat **122** war im Reaktionsmedium (Dioxan/MeOH, 1:1) ausgezeichnet löslich und die Reaktion verlief

glatt in homogener Phase (RT, 3 Wochen). Wie bei Holmquist [42] wurde durch die Änderung der Schutzgruppe am N-Acetyl-D-Glucosamin kein Einfluss auf die Stereoselektivität der Aldol-Kondensation im Vergleich zur Originalvorschrift [37] beobachtet. Das Kopplungsprodukt **123** wurde nicht isoliert, sondern analog zu [37] direkt aufgearbeitet. Die Behandlung des Rohproduktes mit saurem Ionenaustauscher (IRA-120/H⁺) überführte das Kalium-Salz **123** in das entsprechende protonierte α -Keto- γ -Lacton (s. Schema 16). Unter diesen schwach sauren Bedingungen wurde die 7,9-O-Isopropyliden-Schutzgruppe zu ca. 50% abgespalten (nach DC-Kontrolle). Bei der anschliessenden säurekatalysierten t-Butylesterspaltung und Decarboxylierung zu **124** (100°C, H₂O) wurde die Isopropylidengruppe erwartungsgemäss vollständig entfernt. Die nachfolgende basenkatalysierte Öffnung des γ -Lactons **124** bei pH 9-10 (0°C, 24h) und ein erneuter intramolekularer Ringchluss (C(6)-OH $\rightarrow$ C(2)) der intermediär gebildeten offenkettigen Nonulose lieferten **2** in einer Ausbeute von 39% (vgl. 30% nach [37]). Die kristalline Säure **2** erwies sich in allen physikalischen Daten (s. Tabelle 3 / Kap. 7) identisch mit einer nach [37] erhaltenen Vergleichssubstanz und es konnten keine Anteile an epimeren Neuraminsäuren beobachtet werden.

Schema 16



Die von uns modifizierte Neu5Ac-Synthese bietet gegenüber der Originalvorschrift von Kuhn und Baschang [37] folgende Vorteile: 1.) Die Substitution des 4,6-O-Ben-

zytiden-N-Acetyl-D-glucosamins **8** durch das gut zugängliche 4,6-O-Isopropyliden-Derivat **122** erlaubt aufgrund der wesentlich besseren Löslichkeitseigenschaften von **122** die Durchführung von Ansätzen in fast beliebiger Grösse. Der grösste von mir je durchgeführte Ansatz lag im Bereich von 1 Mol **122** (261.3 g). 2.) Die hydrogenolytische Entfernung der 4,6-O-Benzyliden-Schutzgruppe ($H_2/Pd-C$) stellt in der Originalvorschrift einen zusätzlichen Syntheseschritt dar. Beim Einsatz des 4,6-O-Isopropyliden-Derivats **122** kommt man ohne diesen Schritt aus, da die wesentlich säurelabilere Isopropyliden-Schutzgruppe bereits während der sauren Aufarbeitung des Aldolproduktes **123** abgespalten wird. 3.) Die Ausbeute von Neu5Ac **2** wurde von 30% auf 39% erhöht, was in Anbetracht der schlechten Zugänglichkeit von **2** nicht unwesentlich ist.

4.2. Herstellung der 2,3-Dehydro-N-Acetylneuraminsäure **126** und des Oxazolins **116**

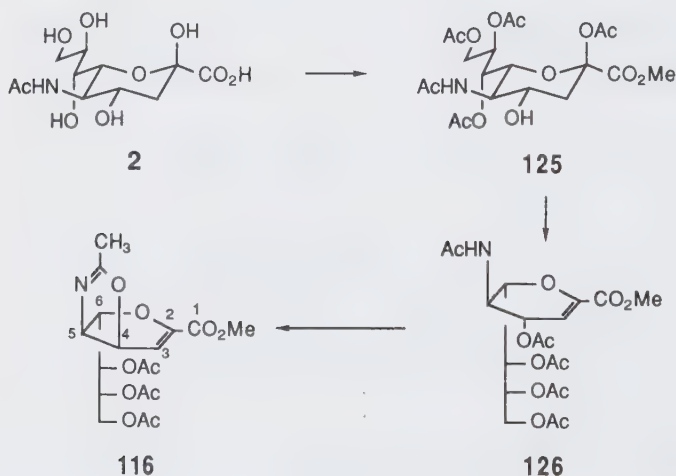
Bei der säurekatalysierten Acetylierung des Methylesters von Neu5Ac **2** wird die anomere O-Acetylgruppe des intermediär entstehenden Pentaacetats **125** leicht eliminiert und die gebildete 2,3-Dehydro-Neu5Ac **126** epimerisiert in einer Folge-reaktion an C(4) [123]. Das als Zwischenprodukt anzunehmende Oxazolin **116** ist dabei als Nebenprodukt in 2-4% Ausbeute isoliert worden (Schema 17).

Während Claesson und Luthman [131] bei der Umsetzung des Pentaacetats **125** mit kat. Mengen TMS-Triflat ausschliesslich die Bildung von **126** (90%) beobachteten, konnten Kumar et al. [129] die D-glycero-D-galacto und D-glycero-D-talo konfigurierten 2,3-Dehydro-N-Acetylneuraminsäuren mit anderen Lewisäuren ($BF_3 \cdot Et_2O$, $SnCl_4$) in 90% Ausbeute zum Oxazolin **116** umsetzen. Diese Beobachtungen liessen vermuten, dass die direkte, einstufige Überführung des Pentaacetats **125** in das Oxazolin **116** via das intermediär gebildete 2,3-Dehydro-Derivat **126** möglich sein sollte (Schema 17).

Neu5Ac **2** wurde in $Ac_2O/Pyridin$ ($0^\circ C$, 24 h) peracetyliert und mit Diazomethan verestert (**2** $\rightarrow$ **125**, 91%). Die Reaktion von **125** mit kat. Mengen TMS-Triflat (0.2 Äq.) in CH_3NO_2 bei RT führte jedoch im Gegensatz zu den Ergebnissen von Claesson und Luthman (vgl. oben) zu keiner Umsetzung. Die Eliminierung der anomeren Acetylgruppe wurde erst bei Zugabe von 1 Äquivalent TMS-Triflat beobachtet, wobei die optimalen Reaktionsbedingungen erst mit 2 Äquivalenten TMS-Triflat in CH_3NO_2 bei RT erreicht wurden. Unter diesen Bedingungen reagierte aber

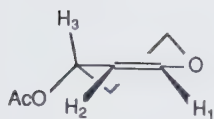
die 2,3-Dehydro-Neu5Ac **126** unter Abspaltung der allylischen 4-O-Acetylgruppe und unter Beteiligung der Acetamidogruppe direkt weiter zum Oxazolin **116** ($\rightarrow 75\%$, Schema 17). Wurde die Reaktion bei $+4^{\circ}\text{C}$ geführt, konnte das als Zwischenprodukt auftretende **126** in 69% Ausbeute (neben 15% **116**) isoliert werden. Bei dieser Temperatur verliefen die Eliminierung der 4-O-Acetylgruppe und der Ringschluss zum Oxazolin **116** deutlich langsamer.

Schema 17



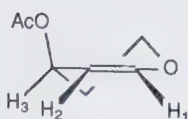
Die Konstitution und die Konfiguration von **126** und **116** sind aus den ^1H -NMR-Spektren klar ersichtlich und die Daten stimmen mit den Literatur-Werten [129, 132, 133] überein. Die Konfiguration an C(4) von **126** wurde durch einen Vergleich der Kopplungskonstante $J_{3,4}$ im ^1H -NMR-Spektrum von **126** (3.2 Hz) mit den charakteristischen $J_{2,3}$ -Kopplungskonstanten in an C(3) pseudo-äquatorial und pseudo-axial konfigurierten Glycalen bestimmt (s. unten). An C(3) pseudo-äquatorial substituierte Glycale **127** weisen für die $J_{2,3}$ -Kopplungskonstante Werte von 2-4 Hz auf, während für die entsprechenden pseudo-axial substituierten Glycale **128** $J_{2,3}$ -Kopplungskonstanten von 6-7 Hz gefunden werden ("Glycal-Regel", [134]). Eine Epimerisierung an C(4) von **126** konnte damit unter obigen Reaktionsbedingungen ausgeschlossen werden.

"Glycal-Regel"



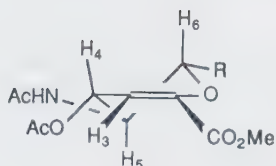
127

$$J_{2,3} = 2-4 \text{ Hz}$$



128

$$J_{2,3} = 6-7 \text{ Hz}$$



126 R = C₃-Seitenkette

$$J_{3,4} = 3.2 \text{ Hz}$$

Die Kopplungskonstante $J_{3,4}$ im Oxazolin **116** beträgt interessanterweise nur 4 Hz und liesse aufgrund der "Glycal-Regel" auf ein 4,5-trans-diäquatorial-konfiguriertes Oxazolin schliessen. Molekülmodellbetrachtungen zeigen jedoch, dass die obige "Glycal-Regel" für das Oxazolin **116** nicht gilt, da durch die Ausbildung des Oxazolinringes die Halbsesselkonformation von **116** deformiert wird und als Folge davon der Diederwinkel H-C(3)-C(4)-H einen grösseren Wert annimmt. Eine Verkleinerung der Kopplungskonstante $J_{3,4}$ erscheint damit plausibel. Die Kopplungskonstante $J_{4,5}$ (8.6 Hz) deutet auf eine annähernd synperiplanare Lage von H-C(4) und H-C(5) im 4,5-cis-konfigurierten Oxazolin **116** hin [135]. Die cis-Konfiguration an C(4) und C(5) wird gestützt durch die ungewöhnliche Hochfeldverschiebung des Signals von H-C(6) zu 3.44 ppm. Im Vergleich dazu werden die H-C(6)-Signale anderer Neu5Ac-Derivate in der Regel bei 4.5-4.0 ppm gefunden (vgl. Exp. Teil). Die Hochfeldverschiebung von H-C(6) muss damit auf eine starke Abschirmung dieses Wasserstoffatoms durch den 4,5-cis-ständigen Oxazolinring zurückgeführt werden. Eine ähnlich grosse Abschirmung von H-C(6) im 4,5-trans-diäquatorial-konfigurierten Oxazolin ist nicht zu erwarten.

4.3. Funktionalisierung an C(2) und C(3) der 2,3-Dehydro-N-Acetylneuraminsäure **126**

Die geplante Synthese der N-Acetyl-4-epineuraminsäure **102** und der N-Acetyl-4-desoxy-4-fluorneuraminsäure **121** enthält als einen Schlüsselschritt die Überführung des Neu5Ac-Glycals **117** in das entsprechende Glycosid **118**, bzw. **121** (vgl. Synthesepplan, Schema 15). Diese Umfunktionalisierung der Kohlenstoffatome C(2)

und C(3) entspricht formal einer Addition von Hydroxyverbindungen an das Neu5Ac-Glycal **117**.

Die Haloalkoxylierung von Glycalen, dh. die einstufige Überführung von Glycalen in 2-Desoxy-2-halo-glycoside, ist schon länger bekannt. 2-Desoxy-2-iod-glycoside wurden aus Glycalen mit I_2 und Alkoholen in Gegenwart von Silbersalzen und org. Basen [136, 137] oder mit N-Iodsuccinimid [138] hergestellt. Tatsuta et al. [139] setzten Glycale mit Alkoholen und N-Bromsuccinimid, N-Bromacetamid oder 1,3-Dibrom-5,5-dimethylhydantoin zu 2-Brom-2-desoxy-glycosiden um. Mit hoher Regio- und Stereoselektivität führen solche Haloalkoxylierungen unter 1,2-trans-diaxialer Addition zu 1,2-trans-konfigurierten 2-Brom- oder 2-Iod-glycosiden. Diese Produkte lassen sich anschliessend mit Tributylzinnhydrid (Bu_3SnH , AIBN) [140, 139, 141] oder mit Nickelborid ($NiCl_2$, $NaBH_4$) [142] reduktiv in die entsprechenden 2-Desoxy-glycoside überführen.

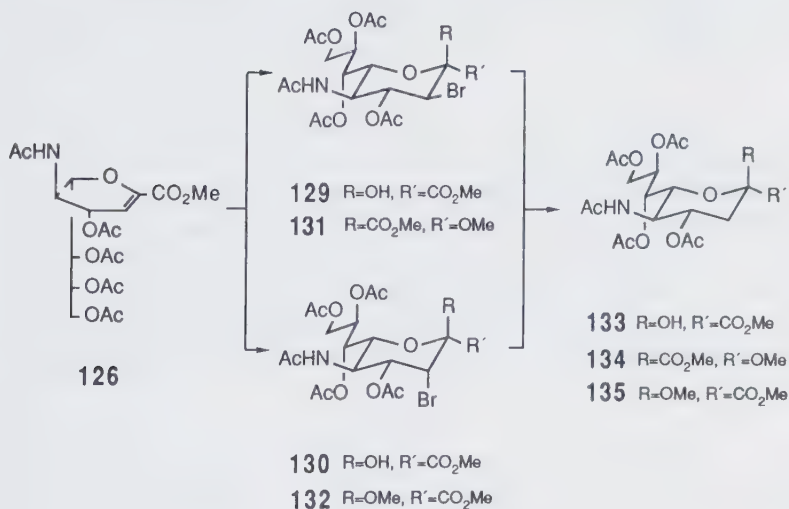
Die Haloalkoxylierung von Neu5Ac-Glycalen wurde an der 2,3-Dehydro-Neu5Ac **126**, die aus Neu5Ac **2** in 69% Ausbeute zugänglich ist, untersucht⁶. Die Umsetzung von **126** mit N-Bromsuccinimid (1.2 Äquiv.) in Dioxan/ H_2O bei RT führte nach 3 h zu 2 Produkten: dem unpolaren **129** (38%) und dem polaren **130** (54%) (Schema 18). Die epimeren Bromide **129** und **130** konnten durch Flash-Chromatographie [144] getrennt werden, wobei das Produkt **130** kristallisierte, während **129** nur als amorpher Schaum erhalten wurde. Die chem. Verschiebungen von H-C(3) im 1H -NMR-Spektrum (**129**: 4.36 ppm, **130**: 4.63 ppm) und von C(3) im ^{13}C -NMR-Spektrum (**129**: 49.94 ppm, **130**: 51.26 ppm) stimmen mit den für eine Bromsubstitution an C(3) erwarteten Verschiebungswerten überein (1H -NMR: 4.0-4.5 ppm; ^{13}C -NMR: 40-50 ppm, [145, 146]). Die äquatoriale Lage des Brom-Substituenten an C(3) in **129** ist aus dem 1H -NMR-Spektrum klar ersichtlich, in welchem das Signal von H-C(3) durch eine vicinale trans-Kopplung mit H-C(4) in ein Dublett von $^3J_{3,4} = 10.5$ Hz aufgespalten wird. Analog dazu wird in **130** die axiale Lage des Brom-Substituenten anhand der vicinalen cis-Kopplung zwischen H-C(3) und H-C(4) von $^3J_{3,4} = 3.6$ Hz bewiesen.

In gleicher Weise wurde **126** in MeOH mit NBS zu den 3-Brom-methylglycosiden **131** und **132** in 97% Gesamtausbeute umgesetzt [48]. Das Diastereomerenverhältnis betrug 1:1 und die 1H - und ^{13}C -NMR-Daten sind vergleichbar mit denjenigen von **129** und **130** (1H -NMR: Dublett bei 3.97 ppm mit $J_{3,4}=10.5$ Hz für H-(3) von **131**, bzw. Dublett bei 4.61 ppm mit $J_{3,4}=3.6$ Hz für H-C(3) von **132**. ^{13}C -NMR:

⁶ Unabhängig und zeitgleich mit uns haben Goto et al. [143] die gleichen Resultate erzielt.

Dublett bei 49.55 ppm für C(3) von **131**, bzw. Dublett bei 45.46 ppm für C(3) von **132**). Die Stereoselektivität dieser Bromalkoxylierungen liess sich weder durch den Einfluss der Reaktionstemperatur (0-60°C) noch durch die Zugabe eines weiteren Lösungsmittels (DMF, DMSO, CH₃CN) wesentlich beeinflussen.

Schema 18



In einem zweiten Schritt wurden die Bromide **129** und **130**, bzw. **131** und **132** mit Tributylzinhydrid in Gegenwart von AIBN (90°C, Toluol) reaktiv debromiert. Die Reduktionen verliefen schnell: sie waren nach 5 Minuten abgeschlossen. Die bekannten Produkte **133** [133, 147], **134** [148-150] und **135** [148, 151] wurden nach chromatographischer Abtrennung der Zinnverbindungen (Bu₃SnBr) in hohen Ausbeuten gewonnen (70-77% für **133**, 95-97% für **134** und **135**).

Die oben erwähnten Untersuchungen zeigen, dass die Bromalkoxylierung von Neu5Ac-Glycalen gefolgt von der Reduktion der intermediär gebildeten 3-Desoxy-3-haloglycosiden eine geeignete Methode zur Überführung von Neu5Ac-Glycalen in "einfache" Neu5Ac-Glycoside darstellt. Die Reaktionsbedingungen sind mild und die Gesamtausbeuten hoch (70-90%). Die geringe Stereoselektivität im Bromalkoxylierungsschritt ist dann ohne Bedeutung, wenn die gebildeten (Methyl-) Glycoside - wie bei der geplanten Synthese von **102**, **109** und **121** - ohnehin hydrolysiert

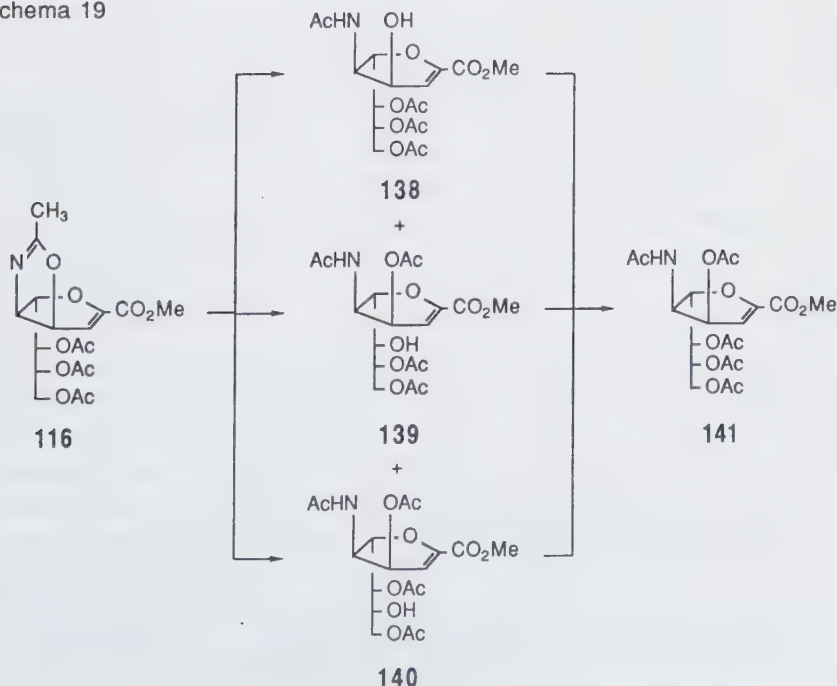
werden (vgl. Kap. 5.). Die Haloalkoxylierung von **126** in Gegenwart von selektiv geschützten Kohlenhydraten wie **136** und **137** (s. Kap. 9.2) ergab - vermutlich aufgrund der zu geringen Reaktivität dieser Hydroxyverbindungen - keine Glycoside. Bei den durch Lewissäuren katalysierten Glycosidierungen der Acetochlor- oder Acetobrom-N-Acetylneuraminsäureester entsteht das Glycal **126** bisweilen in grossen Mengen als Nebenprodukt (vgl. Kap. 9.1). Die Rückführung von **126** in die wertvolle Neu5Ac **2** mit Hilfe der obigen Reaktionssequenz ist deshalb von allgemeinem Interesse.

5. Synthese der N-Acetyl-4-epineuraminsäure

Die geplante Synthese der N-Acetyl-4-epineuraminsäure **102** beruht auf folgenden Schlüsselschritten: 1. Selektive Hydrolyse des Oxazolins **116** zu 2,3-Dehydro-4-*epi*-Neu5Ac **138** (Schema 19), 2. Bromalkoxylierung von **141** mit nachfolgender reduktiver Debromierung zu 4-*epi*-Neu5Ac-Glycosiden **147** und **148** (Schema 21) und 3. Verseifung und Hydrolyse dieser Glycoside zum Produkt **102** (Schema 21).

Das aus N-Acetylneuraminsäure **2** in drei Stufen und in einer Gesamtausbeute von 68% gut zugängliche Oxazolin **116** wurde mit HOAc/H₂O in AcOEt nach der Vorschrift von Kumar et al. [129] hydrolysiert. Im Gegensatz zu den publizierten Ergebnissen, wonach die saure Hydrolyse von **116** selektiv das 2,3-Dehydro-Derivat **138** in 88% Ausbeute ergibt, wurde die Bildung von drei UV-aktiven Produkten beobachtet, die mittels präp. HPLC getrennt wurden. Neben dem gewünschten Produkt **138**, das in nur 57% Ausbeute erhalten wurde (beschrieben wurden 88% [129]), wurden die isomeren Verbindungen **139** (8%) und **140** (33%) isoliert (Schema 19).

Schema 19



Die Struktur der Isomeren **138**, **139** und **140** wurde anhand ihrer spektroskopischen Daten abgeleitet: Die Verbindungen **138-140** weisen in ihren Massenspektren (chem. Ionisierung: CI) den gleichen Molekularpeak bei m/z 432 ($[M+1]^+$) auf. Ein Vergleich der $J_{3,4}$ -Kopplungskonstanten zeigt in Übereinstimmung mit der in Kap. 4.2. zitierten Glycal-Regel, dass in allen drei Produkten der Substituent an C(4) pseudo-axial angeordnet ist (vgl. Tabelle 1). Drei O-Acetyl- und ein N-Acetyl-Signal in den einander sehr ähnlichen ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren deuteten an, dass sich die Produkte **138**, **139** und **140** lediglich im Acetylierungsmuster der drei C(4)-, C(7)- und C(8)-Hydroxyl-Gruppen voneinander unterscheiden. Diese Vermutung wurde durch die Überführung eines Gemisches aus **138**, **139** und **140** in das einheitliche Tetraacetat **141** bestätigt (Schema 19). Das jeweilige Acetylierungsmuster der drei Hydrolyseprodukte **138-140** lässt sich anhand eines Vergleichs der chem. Verschiebungen der Signale von H-C(4), H-C(7) und H-C(8) im ^1H -NMR- und der Signale von C(4), C(7) und C(8) im ^{13}C -NMR-Spektrum bestimmen. Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, werden die Signale der H- und der C-Atome in den Positionen, die eine freie Hydroxylgruppe tragen, deutlich zu höherem Feld verschoben, während die Signale der anderen H- und C-Atome nur eine geringfügige Änderung der chem. Verschiebung erfahren ("Acetylierungsshift-Effekt" [135]).

Tabelle 1 *Ausgewählte ^1H - und ^{13}C -NMR-Daten der Verbindungen **138** - **141**⁷*

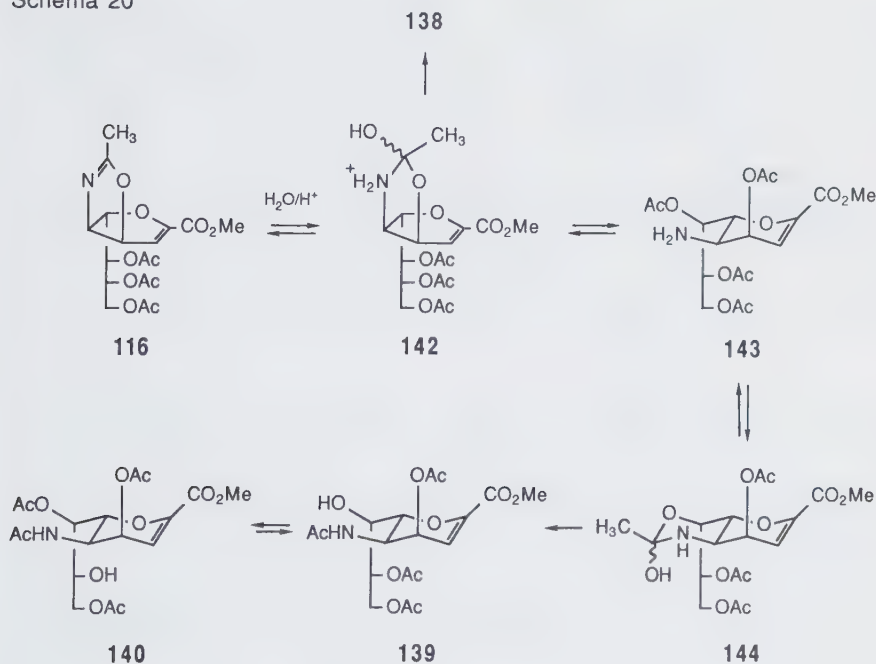
Verbindung	^1H -NMR J [Hz], δ [ppm]				^{13}C -NMR δ [ppm]		
	$J_{3,4}$	H-C(4)	H-C(7)	H-C(8)	C(4)	C(7)	C(8)
138	5.6	4.22	5.45	5.29	61.04	67.96	71.91
139	5.7	5.22	3.83	5.34	64.95	67.09	70.88
140	5.6	5.18	5.19	4.31	64.70	68.81	67.26
141	5.6	5.15	5.50	5.32	64.67	67.62	71.72

Die Entstehung der Nebenprodukte **139** und **140** kann nicht mit einer säurekatalysierten Umacetylierung des Hauptproduktes **138** erklärt werden, da seine Behandlung unter den Hydrolyse-Bedingungen (HOAc (1.4 Äquiv.), H_2O (23 Äquiv.), AcOEt, RT, 6d) nicht die Isomeren **139** und **140** liefert. Es muss vielmehr der im Schema 20

⁷ Alle ^1H -NMR und ^{13}C -NMR-Spektren von geschützten Verbindungen wurden in dieser Arbeit in CDCl_3 , von ungeschützten Verbindungen in D_2O als Lösungsmittel gemessen.

dargestellte Mechanismus angenommen werden: Die Spaltung der C-O-Bindung im Hemi-orthoamid **142** führt zum Hauptprodukt **138**. In einer Konkurrenzreaktion kann unter den sauren Bedingungen die Spaltung der C-N-Bindung zum Amin **143** erfolgen, das dann mit der C(7)-O-Acetylgruppe zum Hemi-orthoamid **144** zyklisiert. Die Spaltung der C-O-Bindung in **144** führt zum Isomeren **139**, das via eine C(7)-C(8)-O-Acetyl-Wanderung in die Verbindung **140** übergeht⁸.

Schema 20



Die Ausbeute des Hauptproduktes **138** liess sich optimieren: Die Hydrolyse des Oxazolins **116** in THF/ H_2O in Gegenwart von $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ (1.5 Äquiv.) erhöht die Ausbeute des gewünschten Produktes **138** auf 89%, während die Ausbeuten der Isomeren **139** und **140** auf 7, bzw. 4% reduziert werden.

⁸ Die C(7)-C(8)-O-Acetyl-Wanderung wurde durch ein Kontrollexperiment nachgewiesen: Die Behandlung von **139** unter den Hydrolyse-Bedingungen (HOAc (1.4 Äquiv.), H_2O (23 Äquiv.), AcOEt , RT, 6d) ergab ein Gemisch aus **139** und **140** im Verhältnis 1:4.

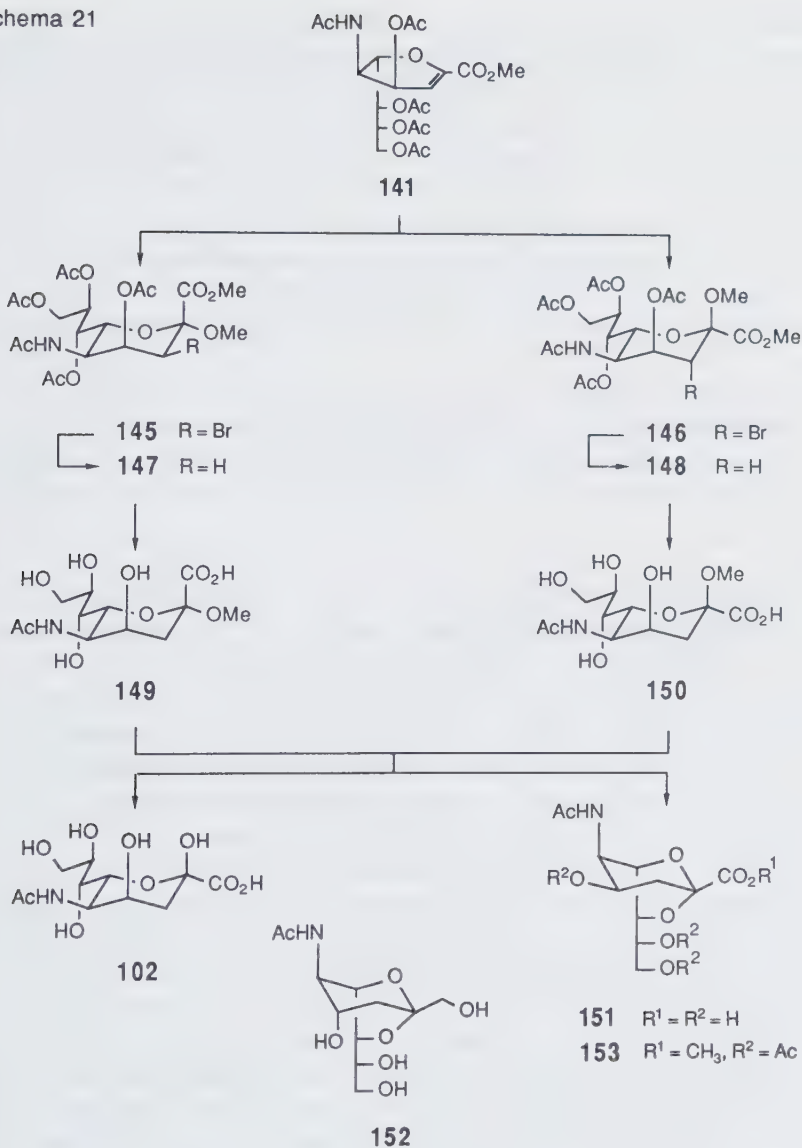
Für die Synthese der N-Acetyl-4-epineuraminsäure **102** wurde das Gemisch aus **138**, **139** und **140** in das einheitliche Tetraacetat **141** übergeführt ($\text{Ac}_2\text{O}/\text{Pyridin}$ (1:1) RT, 24h, 99%, Schema 19). Die im Kap. 4.3. beschriebene Bromalkoxylierung von 2,3-Dehydro-Neu5Ac-Glycalen mit N-Bromsuccinimid und Methanol ergab im Fall von **141** wie erwartet die Bromide **145** (36%) und **146** (62%), die nach chromatographischer Auftrennung kristallisierten (Schema 21).

Der neu eingeführte Brom-Substituent an C(3) ist in dem auf DC weiterlaufenden Produkt **145** äquatorial und in dem weniger weit laufenden Produkt **146** axial angeordnet. Diese Zuordnung der Konfiguration ergibt sich aus einem Vergleich der chem. Verschiebungen von C(3) in **145** und **146**. Im ^{13}C -NMR von **145** erscheint das Signal von C(3) als Dublett bei 48.34 ppm, während das entsprechende Signal von **146** bei 44.09 ppm gefunden wird. Signale von Kohlenstoffatomen, die axiale Substituenten tragen, werden in der Regel bei höherem Feld gefunden als entsprechende Signale von Kohlenstoffatomen mit äquatorialen Substituenten [146]. Die $J_{3,4}$ -Kopplungskonstante im ^1H -NMR-Spektrum von **145** und **146** stellt aufgrund des nur geringen Unterschieds (**145**: 2.6 Hz; **146**: 2.2 Hz) kein Zuordnungskriterium dar.

Radikalische Debromierung der Bromide **145** und **146** mit $\text{Bu}_3\text{SnH}/\text{AIBN}$ (Toluol, 90°C) lieferte die Methylglycoside **147** und **148** in je 96% Ausbeute (Schema 21). Die Konfiguration an C(2) in **147** und **148** wurde anhand der von Paulsen et al. [152] aufgestellten, nur für acetylierte Neu5Ac-Glycoside gültigen empirischen Regel zugeordnet. Nach dieser Regel nimmt die Kopplungskonstante $J_{7,8}$ in Abhängigkeit von der Konfiguration an C(2) einen charakteristischen Wert an. Für α -D-Glycoside findet man: $J_{7,8} = 6.2\text{--}8.2$ Hz; für β -D-Glycoside: $J_{7,8} = 2.4\text{--}2.6$ Hz. Die beobachteten $J_{7,8}$ -Konstanten für **147** (7.9 Hz) und **148** (2.4 Hz) entsprechen sehr gut dieser Regel.

Die geschützten Glycoside **147** und **148** wurden mit 1N NaOH bei 40°C verseift ($\rightarrow$ **149** + **150**, 92-93%) und anschliessend mit 0.025N HCl bei 80°C hydrolysiert. Während die saure Hydrolyse des α -D-Glycosids **149** nach 30 Min. abgeschlossen war, dauerte die Hydrolyse des wesentlich säurerestabileren β -D-Glycosids **150** 80 Min. Die N-Acetyl-4-epineuraminsäure **102** wurde nach Chromatographie an Dowex 1X8 (HCO_2^- -Gradient) und Lyophilisierung der Produktfraktionen als weisser Schaum isoliert (79-84% aus **149** oder **150**).

Schema 21



Die ¹H-NMR- und ¹³C-NMR-Daten der N-Acetyl-4-epineuraminsäure **102** sind in Tabelle 3 (Kap. 7) zusammengefasst (vgl. auch [119]). Ein Vergleich der ¹H-NMR-Daten von **102** mit denjenigen der an C(4) epimeren N-Acetylneuraminsäuren **2**

zeigt abgesehen vom Wert der Kopplungskonstanten $J_{3a,4}$ und $J_{4,5}$ nur geringfügige Unterschiede (vgl. Tabelle 3). Für die Kopplungskonstanten $J_{3a,4}$ und $J_{4,5}$ werden in **2** 11.6 und 10.0 Hz und in **102** 3.3 und 3.1 Hz gefunden. Diese Werte entsprechen einer 1,2-diaxialen Lage der Wasserstoffatome H-C(3)_a/H-C(4) und H-C(4)/H-C(5) in **2**, bzw. einer 1,2-synclinalen Lage der Wasserstoffatome H-C(3)_a/H-C(4) und H-C(4)/H-C(5) in **102** [135]. Im ^{13}C -NMR-Spektrum von **102** sind die Signale von C(3), C(5) und C(6) gegenüber denjenigen von **2** um 2.7-4.5 ppm zu höherem Feld verschoben. Insbesondere die deutliche Hochfeldverschiebung von C(6) um 4.5 ppm beruht auf einer Änderung des γ -Effektes beim Übergang von einem äquatorialen (**2**) zu einem axialen (**102**) C(4)-Substituenten im Neu5Ac-Gerüst [153].

Bei der sauren Hydrolyse der Methylglycoside **149** und **150** entsteht als Nebenprodukt die 2,7-Anhydro-Verbindung **151** in 9-11% Ausbeute (Schema 21). Das Verhältnis der Ausbeuten von **102** und **151** ist von der Hydrolysedauer abhängig (s. Exp. Teil): So wird nach 5 h bei 80°C **102** in 32-38% und **151** in 36-39% Ausbeute isoliert.

Die Struktur des Nebenproduktes **151** kann eindeutig aus den spektroskopischen Daten abgeleitet werden. Das FAB-Massenspektrum von **151** zeigt einen Molekularpeak bei m/z 292 ($[\text{M}+1]^+$). Die gemessene Massendifferenz von m/z 18 ($=\text{H}_2\text{O}$) zwischen **102** und **151** ist ein Hinweis auf das Vorliegen einer Anhydro-Verbindung. Ein Vergleich der chem. Verschiebungswerte von einander entsprechenden H- und C-Atomen im ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektrum von **102** mit denjenigen von **151** (vgl. Tabelle 3, Kap. 7) zeigt für **151** eine markante Tieffeldverschiebung der C-Atome C(2), C(6) und C(7) ($\Delta\delta = 9\text{-}13$ ppm) und der H-Atome H-C(6) und H-C(7) ($\Delta\delta = 0.6\text{-}0.8$ ppm). Die anderen, einander entsprechenden C- und H-Atome von **102** und **151** zeigen keine signifikanten Unterschiede. Es ist bekannt, dass die Überführung eines Alkohols in einen Äther im ^{13}C -NMR-Spektrum eine Tieffeldverschiebung der α -C-Atome des Äthers gegenüber dem α -C-Atom des Alkohols um 10-12 ppm bewirkt (β -Effekt, [146]). In **151** wird für C(7) und C(2) eine Tieffeldverschiebung von 9, bzw. 9.2 ppm gefunden. Diese Daten sind mit der postulierten 2,7-Anhydro-Struktur **151** konsistent. Die Ausbildung einer 2,7-Anhydro-Brücke in **151** bewirkt eine Inversion der Sesselkonformation von $^5\text{C}^2$ (**102**) nach $^5\text{C}_2$ (**151**). Dies kann anhand der Änderung der Kopplungskonstanten $J_{3a,4}$ (**102**: 3.3 Hz $\rightarrow$ **151**: 10.8 Hz) und $J_{5,6}$ (**102**: 10.9 Hz $\rightarrow$ **151**: 1.2 Hz) bewiesen werden. α -D-Glycoside von Sialinsäuren zeigen generell positivere spez. Drehwerte, d.h. sie sind stärker rechtsdrehend, als die entsprechenden β -D-Glycoside [55, 154]. Die starke Änderung der spez. Drehung von -82° in **102** auf $+54^\circ$ in **151** und der Vergleich dieser Werte mit den-

jenigen für die bekannte 2,7-Anhydro-nonulopyranose **152** ($-31^{\circ} \rightarrow +74^{\circ}$, [155]) bestätigt die α -D-Konfiguration an C(2) und die 5C_2 -Konformation von **151**. Zur weiteren Charakterisierung wurde die Verbindung **151** in das Triacetat **153** übergeführt (vgl. Schema 21). Die physikalischen Daten von **153** sind mit denjenigen von **151** konsistent (vgl. Tabelle 3).

6. Stereoselektive Deuterierungen an C(3) von N-Acetylneuraminsäure- und N-Acetyl-4-epineuraminsäure-methylglycosiden

6.1. Einleitung

Bei der Aufklärung von chemischen und biochemischen Reaktionsmechanismen werden häufig mit Deuterium (^2H) stereoselektiv markierte Verbindungen verwendet. Einige am Metabolismus von Neu5Ac beteiligte Enzyme, wie Neu5Ac-Aldolasen, Sialidasen oder Sialytransferasen, katalysieren Reaktionen, an denen die C(3)-Methylen-Gruppe von **2** entweder unmittelbar beteiligt ist (Aldolasen: Spaltung der C(3)-C(4)-Bindung), oder bei denen die $\text{H}_2\text{C}(3)$ -Gruppe in α -Stellung zum Reaktionszentrum C(2) steht (Sialidasen, Transferasen: Spaltung/Knüpfung der glycosidischen Bindung) (s. Kap. 1.2, 1.4 und 1.5). N-Acetylneuraminsäuren und ihre Glycoside, die an C(3) wahlweise einen axialen oder äquatorialen Deuterium-Substituenten tragen, sind deshalb für die Untersuchungen der Reaktionsmechanismen dieser Enzyme aufgrund der zu erwartenden Produkte (Aldolasen: E/Z-Deuteropyruvat) und der Isotopen-Effekte (Sialidasen, Transferasen) von grossem Interesse.

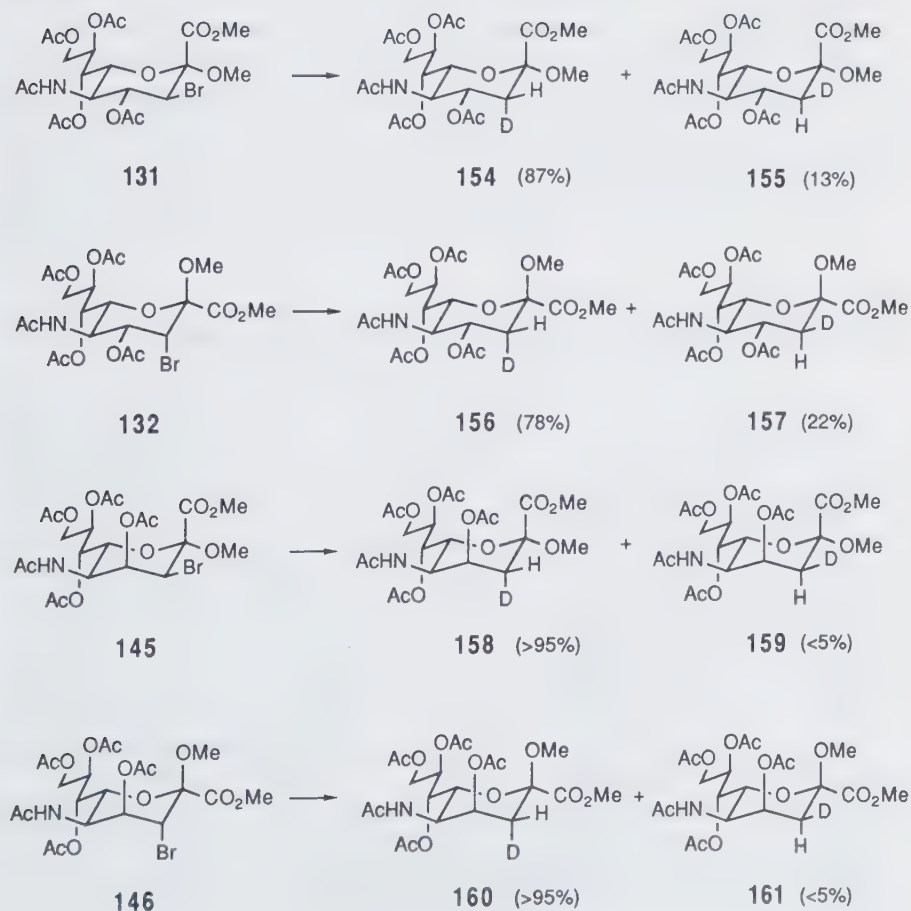
Die Deuterierung an C(3) von N-Acetylneuraminsäure **2** wurde bereits von Friebolin et al. [156] untersucht. Diese Autoren haben in einer ^1H -NMR-spektroskopischen Untersuchung festgestellt, dass in D_2O und bei pD-Werten > 7 beide C(3)-Wasserstoffatome gegen Deuterium ausgetauscht werden, wobei der Austausch der axialen C,H-Funktion etwas schneller erfolgt als derjenige der äquatorialen. Dieser H-D-Austausch ist reversibel und findet in saurer Lösung (pD < 7) nicht statt.

In den Kapiteln 4.3 und 5. wurde die Herstellung der an C(3), bzw. an C(4) epimeren 3-Brom-3-desoxyneuraminsäuren **131-132** und **145-146** durch Bromalkoxylierungen der geschützten N-Acetyl-2,3-dehydroneuraminsäure **126** und der N-Acetyl-2,3-dehydro-4-epineuraminsäure **141** beschrieben. Diese Bromide können mit Tributylzinnhydrid in sehr hohen Ausbeuten (90-96%) reduziert werden. Die analoge Umsetzung mit Tributylzinndeuterid sollte somit zu den an C(3) deuterierten Derivaten führen. Es ist bekannt, dass Radikalreaktionen an Kohlenhydraten, insbesondere radikalische C-C-Bindungsknüpfungen, unter hoher Stereoselektivität verlaufen können [157]. Es war demnach von Interesse abzuklären, ob sich die epimeren Bromide **131-132**, resp. **145-146** stereoselektiv in die entsprechenden an C(3) axial und insbesondere äquatorial monodeuterierten Derivate überführen lassen.

6.2. Ergebnisse und Diskussion

Die Bromide **131-132** und **145-146** wurden mit Tributylzinndeuterid/AIBN bei 90°C in abs. Toluol reduziert (15 Min.). Nach Abtrennung der Zinnverbindungen durch Säulenchromatographie (AcOEt/Hexan, Gradient: 1:3→10:3) wurden die deuterierten Verbindungen **154-161** jeweils als Epimeren-Gemische in Gesamtausbeuten von 96-98% erhalten (Schema 22). Die Epimerenpaare **154+155**, **156+157**, **158+159** und **160+161** konnten dabei mit chromatographischen Methoden nicht getrennt werden.

Schema 22



Die Zusammensetzung der Epimerengemische **154+155**, **156+157**, **158+159** und **160+161** sowie die Konfiguration an C(3) wurde mit Hilfe der $^1\text{H-NMR}$ - und $^2\text{H-NMR}$ -Spektroskopie untersucht: Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des jeweiligen Epimerengemisches sind die zwei Epimeren bis auf die Signale von $\text{H}_\alpha\text{-C}(3)$ und $\text{H}_\beta\text{-C}(3)$, die zwischen 2.70-1.85 ppm liegen, voneinander nicht zu unterscheiden. Durch den Einbau von Deuterium an C(3) verschwindet das Signal des substituierten H-Atoms; im Bereich 2.70-1.85 ppm verbleibt nur das Signal des zum Deuterium geminalen H-C(3)-Atoms. Signale von $\text{H}_\beta\text{-C}(3)$ erscheinen bei 2.41-2.73 ppm und die Signale von $\text{H}_\alpha\text{-C}(3)$ bei 1.85-1.94 ppm. Die chem. Verschiebungswerte der H-C(3)-Atome der deuterierten Verbindungen **154-161** sind in Tabelle 2 angegeben. Das Aufspaltungsmuster von H-C(3) und H-C(4) wird infolge der Deuterierung an C(3) ebenfalls verändert. Die geminale Kopplungskonstante $J_{3e,3a}$, für die in nicht deuterierten Neu5Ac-Derivaten 12-14 Hz gefunden werden, verschwindet. Das Signal von H-C(3) wird durch H-C(4) in ein Dublett aufgespalten ($J_{3,4}$). Parallel dazu wird das Aufspaltungsmuster von H-C(4) vom dreifachen zum doppelten Dublett vereinfacht ($J_{4,5}$ und $J_{3e,4}$, bzw. $J_{3a,4}$). Die Kopplungskonstanten $J_{3e,4}$ und $J_{3a,4}$ sind in Tabelle 2 zusammengefasst. Die axiale oder die äquatoriale Lage des Deuterium-Substituenten ergibt sich indirekt aus dem chem. Verschiebungswert des zum Deuterium geminal stehenden Protons $\text{H}_\alpha\text{-C}(3)$, bzw. $\text{H}_\beta\text{-C}(3)$ und im Fall von **154-157** zu-

Tabelle 2 *Ausgewählte $^1\text{H-NMR}$ - und $^2\text{H-NMR}$ -Daten von **154-161** und den nicht deuterierten Analogen **134**, **135**, **147** und **148***

Verbindung	$^1\text{H-NMR } \delta [\text{ppm}]$			$^2\text{H-NMR } \delta [\text{ppm}]^a)$		Integral $^b)$	Kopplungskonstanten [Hz]	
	$^1\text{H-3e}$	$^1\text{H-3a}$	$^1\text{H-4}$	$^2\text{H-3e}$	$^2\text{H-3a}$		$J_{3e,4}$	$J_{3a,4}$
154	2.54	-	4.85	-	1.90	87%	4.6	-
155	-	1.92	4.85	2.60	-	13%	-	12.3
134	2.58	1.94	4.88	-	-	-	4.5	12.2
156	2.41	-	5.27	-	1.88	78%	4.9	-
157	-	1.85	5.27	2.45	-	22%	-	12.2
135	2.45	1.87	5.27	-	-	-	5.0	12.1
158	2.71	-	5.09	-	1.90	>95%	3.4	-
159	-	1.97	5.09	c)	-	<5%	-	2.9
147	2.73	1.97	5.09	-	-	-	3.4	2.8
160	2.56	-	4.93	-	1.95	>95%	2.7	-
161	-	1.93	4.93	c)	-	<5%	-	3.4
148	2.58	1.93	4.92	-	-	-	2.8	3.5

a) Gemessen in CHCl_3 . Skala wurde auf das CHCl_3 -Signal geeicht.

b) Anteil des Epimeren im Gemisch.

c) Signale konnten aufgrund der zu geringen Signalintensität nicht beobachtet werden.

sätzlich aus der $J_{3,4}$ -Kopplungskonstante. Für $^1\text{H}_\text{a}\text{-C(3)}$ ($= ^2\text{H}_\text{e}\text{-C(3)}$) findet man: $\delta = 1.94\text{-}1.85$ ppm und $J_{3\text{a},4} = 12.1\text{-}12.3$ Hz; für $^1\text{H}_\text{e}\text{-C(3)}$ ($= ^2\text{H}_\text{a}\text{-C(3)}$): $\delta = 2.73\text{-}2.41$ und $J_{3\text{e},4} = 4.6\text{-}5.0$ Hz. Im Fall der deuterierten Derivate **158-161**, die einen axialen C(4)-Substituenten tragen, ist die $J_{3,4}$ -Kopplungskonstante kein Zuordnungskriterium. Das Verhältnis der Epimere im Gemisch ergibt sich aus dem Integral der H-C(3)-Signale (s. oben und Tabelle 2). Es ist allgemein bekannt, dass die Signale der Deuterium-Atome im vollständig entkoppelten ^2H -NMR-Spektrum bei fast identischen chem. Verschiebungswerten erscheinen wie diejenigen der entsprechenden Protonen im ^1H -NMR-Spektrum [158, 159]. Diese Tatsache wurde zur gegenseitigen Zuordnung von ^1H - und ^2H -Signalen verwendet [159]. Im vollständig entkoppelten ^2H -NMR-Spektrum der deuterierten Derivate **154-161** werden zwei Singletts bei 2.60-2.45 ppm und 1.95-1.88 ppm gefunden (Tabelle 2). Aus dem Vergleich der charakteristischen chem. Verschiebungswerte von $^1\text{H}_\text{a}\text{-C(3)}$ (1.94-1.85 ppm) und $^1\text{H}_\text{e}\text{-C(3)}$ (2.73-2.41 ppm) mit denjenigen von $^2\text{H}\text{-C(3)}$ kann damit direkt auf die Lage des Deuterium-Substituenten geschlossen werden. Das Integral der Deuterium-Signale im ^2H -NMR-Spektrum bestätigt das bereits mit ^1H -NMR bestimmte Epimerenverhältnis. In Tabelle 2 sind die oben diskutierten ^1H -NMR- und ^2H -NMR-Daten der deuterierten Verbindungen **154-161** und ihren nicht deuterierten Analogen **134, 135, 147** und **148** zusammengefasst.

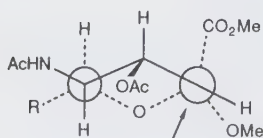
Die Reduktionen der Bromide **131, 132, 145** und **146** mit Tributylzinndeuterid führen unabhängig von der Lage des Brom-Substituenten an C(3) mit hoher Diastereoselektivität zu axial substituierten Deutero-Verbindungen.

Aus den ESR-spektroskopischen Untersuchungen der Struktur von Pyranos-1-yl- [160] und Desoxypyranos-2-, -3- und -4-yl-Radikalen [161] geht hervor, dass die häufig beobachteten Diastereoselektivitäten bei Radikalreaktionen an Kohlenhydraten hauptsächlich auf die unterschiedlichen Konformationen dieser Kohlenhydrat-Radikale [162] und kaum auf eine Pyramidalisierung des Radikalzentrums (σ -Konfiguration) [163] zurückzuführen sind. Das Radikalzentrum ist in solchen Radikalen in der Regel planar und vom π -Typ. Die Analyse von ESR-Kopplungskonstanten zeigt, dass die C(2), C(3) und C(4)-Desoxypyranosyl-Radikale von Aldohexosen die $^4\text{C}_1$ -Sesselkonformation ihrer Stammverbindungen beibehalten [161] und keine Konformationsänderungen in Richtung der Boot-Konformationen erfahren, wie das z.T. bei C(1)-Pyranosyl-Radikalen beobachtet wird [160].

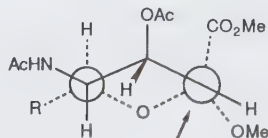
Werden diese Beobachtungen auf die 3-Desoxy-3-neuraminy-Radikale der Bromide **131, 132, 145** und **146** übertragen, so lassen sich die beobachteten Diastereoselektivitäten verstehen: Die Radikale **162-165** nehmen vermutlich die im Schema 23

als Newman-Projektionen dargestellten $5C^2$ -Sessel-Konformationen ein. In dieser Darstellung ist ersichtlich, dass die (bevorzugte) Richtung des Angriffs von Bu_3SnD an das Radikalzentrum C(3) primär von der Anordnung der Substituenten an C(2) bestimmt wird. Ein axialer Angriff des Bu_3SnD von der oberen Seite der Radikale **162-165** erfolgt *cis* zu den axialen C(2)-Methoxy- oder Carboxymethyl-Substituenten. Der analoge Angriff von der unteren Seite führt nur an äquatorialen C(2)-Substituenten vorbei. Dieser Angriff ist damit sterisch und energetisch günstiger (kinetische Kontrolle) und er führt bevorzugt zu den an C(3) axial deuterierten Neu5Ac-Derivaten.

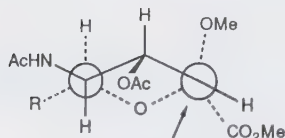
Schema 23



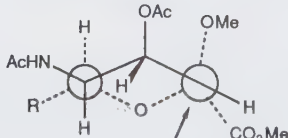
162 (aus 131)



164 (aus 145)



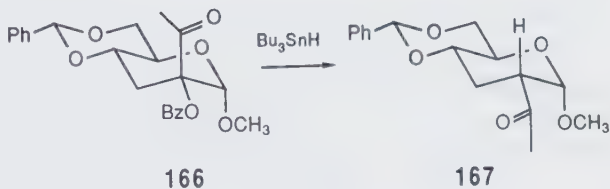
163 (aus 132)



165 (aus 146)

Die Reduktion der Bromide **145** und **146** mit Bu_3SnD erfolgt mit einer etwas höheren Diastereoselektivität als die analoge Reduktion von **131** oder **132** (Schema 22). Der kleine aber signifikante Unterschied in der Diastereoselektivität beruht vermutlich auf einer Wechselwirkung des C(3)-Radikalzentrums mit dem axialen C(4)-Acetoxysubstituenten in **164** und **165**. Es ist wohlbekannt, dass 2-Alkoxyalkyl-Radikale eine koplanare Anordnung des nicht-bindenden, einfach besetzten Orbitals mit der β -ständigen (C-O)-Bindung bevorzugen [164]. In dieser Anordnung (s. Bild unten) ist die Orbitalwechselwirkung bindend und ein Angriff des $^2H\cdot$ -Radikals *trans* zum Alkoxy-Substituent wird begünstigt (kinetische Kontrolle). Der stereochemische Verlauf von Radikalreaktionen kann von diesem " β -Effekt" [165] stark beeinflusst wer-

den. Ein Beispiel hierfür ist die mit hoher Stereoselektivität verlaufende Umsetzung **166**→**167** [166] (s. unten).

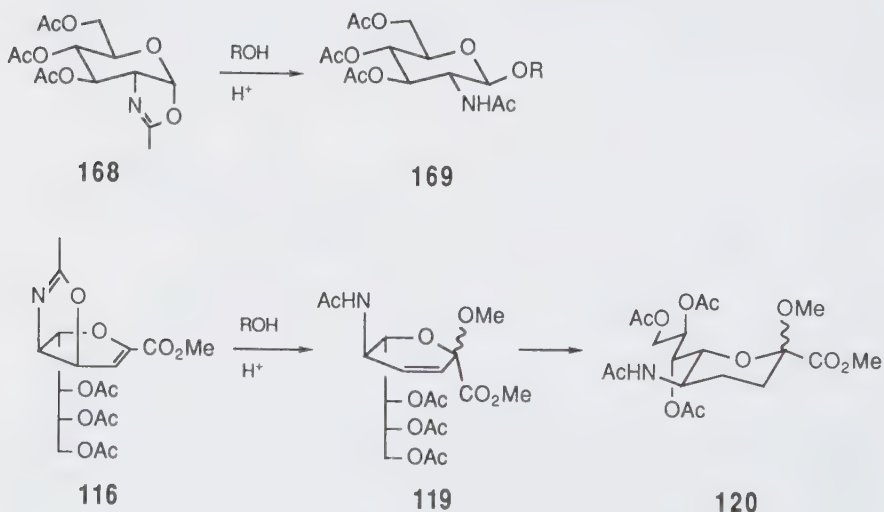


In Radikalen **162** und **163** steht der C(4)-Substituent äquatorial; eine koplanare und damit stabilisierende Anordnung der C(4)-O-Bindung mit dem einfach besetzten Orbital an C(3) ist nicht möglich. Die beobachtete (geringe) Erniedrigung der Diastereoselektivität erscheint damit plausibel; sie kann aber auch mit einer stärkeren sterischen Hinderung des Angriffs "von oben" durch die nun axiale C(4)-OAc-Gruppe rationalisiert werden.

7. Synthese der N-Acetyl-4-desoxyneuraminsäure

Oxazoline wie **168** wurden in stereoselektiven Synthesen von 2-Acetamido-2-desoxy- β -D-glycopyranosiden eingesetzt [61]. In Gegenwart von Hydroxyverbindungen und unter Säurekatalyse reagieren solche Oxazoline stereoselektiv zu 1,2-trans-Glycosiden wie **169** (Schema 24). Im Kap. 4.2. wurde die Herstellung des aus Neu-5Ac **2** in 75% Ausbeute zugänglichen Oxazolins **116** beschrieben. Dieses Oxazolin kann als ein Vinyloges von **168** betrachtet werden. In analoger Weise wie **168** sollte **116** in Gegenwart von Hydroxyverbindungen unter Säurekatalyse zu Glycosiden wie **119** führen (Schema 24). Reduktion der olefinischen Doppelbindung in **119** ergibt die N-Acetyl-4-desoxy-neuraminsäure, bzw. ihre Glycoside wie **120**.

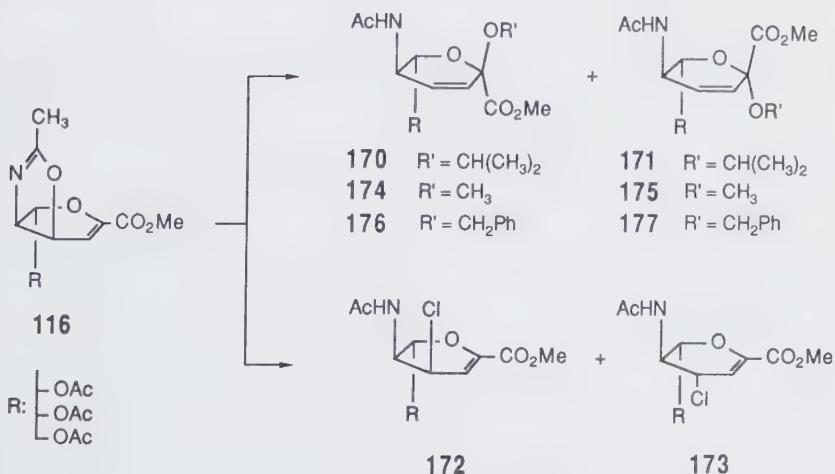
Schema 24



Die säurekatalysierte nucleophile Addition von Hydroxyverbindungen an das Oxazolin **116** wurde mit Isopropanol untersucht: Die Umsetzung von **116** mit 1 Äquivalent wasserfreier HCl in abs. Isopropanol führte nach 5 h bei RT zu insgesamt vier Produkten, die jeweils paarweise einen sehr ähnlichen R_F-Wert im Dünnschichtchromatogramm (DC) zeigten und von denen das weiterlaufende Produkt paar eine starke UV-Aktivität aufwies. Nach chromatographischer Auftrennung der Produkte-

paare wurden die zwei nicht UV-aktiven Produkte als die Glycoside **170** und **171** und die zwei UV-aktiven Produkte als die an C(4) epimeren Chloride **172** und **173** identifiziert ($^1\text{H-NMR}$, **172**: $J_{3,4} = 5.8 \text{ Hz}$; **173**: $J_{3,4} = 2.7 \text{ Hz}$, vgl. "Glycal-Regel" in Kap. 4.2., [134]). In einem Kontrollexperiment wurde **116** in CHCl_3 mit einem Überschuss an wasserfreier HCl umgesetzt. Es wurde ausschliesslich die Bildung der UV-aktiven Chloride **172** und **173** beobachtet, die nach rascher Aufarbeitung und Auftrennung mit präp. HPLC in Ausbeuten von 69% (**172**) und 26% (**173**) isoliert wurden. Die Bildung der Nebenprodukte **172** und **173** wurde durch den Einsatz von Trifluormethansulfonsäure ($\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$) als Katalysator vermieden. Die Umsetzung von **116** mit Trifluormethansulfonsäure (0.5 Äquiv.) in Isopropanol ergab ausschliesslich die kristallinen Glycoside **170** und **171** in einem Verhältnis von 20:1 und in einer Gesamtausbeute von 96% (Schema 25).

Schema 25



Die Konfiguration am anomeren Zentrum der Additionsprodukte **170** und **171** konnte anhand der spektroskopischen Daten nicht mit Sicherheit zugeordnet werden. Erst die Reduktion von **170** zu **182**, bzw. von **171** zu **186** (Schema 27) und der Vergleich der von der Konfiguration am anomeren Zentrum abhängigen $J_{7,8}$ -Kopplungskonstante im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **182** (2.5 Hz) und **186** (6.2 Hz) im Lichte der von Paulsen et al. [152] aufgestellten empirischen " $J_{7,8}$ -Regel" für β -D-Glycoside (2.4-2.6 Hz) und α -D-Glycoside (6.2-8.2 Hz) von Neu5Ac **2** ermöglichte

es, das Hauptadditionsprodukt **170** als das β -D-Glycosid zu erkennen. In Übereinstimmung mit dieser Konfigurationszuordnung findet Baumberger [119] im peracetylierten 4-Methylumbelliferyl- α -D-Glycosid der 4-Desoxy-Neu5Ac **109** für J_{7,8} den Wert 7.7 Hz.

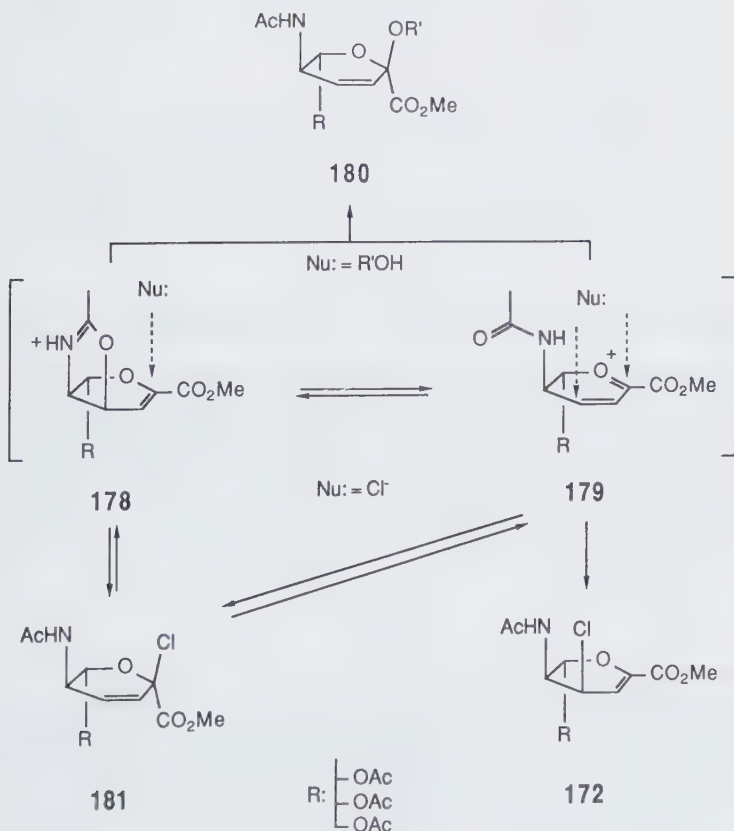
Die säurekatalysierten Additionen anderer einfacher Alkohole wie MeOH oder Benzylalkohol an das Oxazolin **116** ergaben ebenfalls bevorzugt die entsprechenden β -D-Glycoside (MeOH: **174+175**; BnOH: **176+177**) in hohen Ausbeuten (88-96%) und mit hoher Stereoselektivität ($\beta:\alpha = 7:1-8:1$, vgl. Schema 25). Selektiv geschützte Kohlenhydrate wie **136** und **137** (vgl. Kap. 9.2) konnten hingegen nicht addiert werden.

Ein möglicher Reaktionsmechanismus für die säurekatalysierte Addition von Nucleophilen an das Oxazolin **116** wird im Schema 26 vorgestellt: In einem ersten Schritt erfolgt die Aktivierung von **116** durch eine Protonierung des basischen N-Atoms im Oxazolinring von **116**. Das gebildete Oxazoliniumion **178** (im Schema 26 ist nur eine mesomere Form von **178** dargestellt) steht vermutlich im Gleichgewicht mit dem Vinyloxoniumion **179**. Ein nucleophiler Angriff von Hydroxyverbindungen an C(2) von **178** oder **179** führt in beiden Fällen unter stereoelektronischer Kontrolle bevorzugt zum (gleichen) β -D-konfigurierten Produkt **180**. Ausgehend von **178** entspricht der nucleophile Angriff an C(2) unter gleichzeitiger Verschiebung der olefinischen Doppelbindung von C(2)-C(3) nach C(3)-C(4) und unter Öffnung des Oxazoliniumrings einem S_N2'-Reaktionsmechanismus. S_N2'-Reaktionen verlaufen aufgrund von günstigeren Orbitalwechselwirkungen im Übergangszustand bevorzugt nach einem *syn*-Mechanismus (Nucleophil und Abgangsgruppe befinden sich in der gleichen Raumhälfte bezüglich der olefinischen Doppelbindung) [167]. In Analogie zu den ausschliesslich *syn* verlaufenden S_N2'-Substitutionen an Cyclohexenylbenzoaten [168] kann für **178** ebenfalls eine *syn*-Substitution angenommen werden. Erfolgt die Produktbildung hingegen via Vinyloxoniumkation **179**, so entspricht der Reaktionsverlauf einem S_N1'-Mechanismus. Reaktionen vom S_N1'-Typ sind ladungskontrolliert; ein nucleophiler Angriff am Ort der höchsten Ladungsdichte (hier: C(2)) ist am günstigsten. Aus stereoelektronischen Gründen ist der axiale, *syn* zur Acetamido-Gruppe ablaufende Angriff von Nucleophilen an C(2) von **179** bevorzugt (axialer Angriff $\rightarrow$ pseudo-axialer Substituent). Die Bildung der β -D-Glycoside **180** erfolgt bei beiden Reaktionsmechanismen unter kinetische Kontrolle. In einem Kontrollexperiment konnte unter den Reaktionsbedingungen keine Anomerisierung von **170**, resp. **171** beobachtet werden. Aufgrund der vorhandenen exp. Daten ist eine Unterscheidung zwischen den beiden Reaktionsmechanismen nicht möglich. Ein

gemischter S_N1/S_N2 -Mechanismus ist ebenfalls denkbar.

Analog lässt sich die bevorzugte Entstehung des Chlorids **172** (vgl. Schema 25) rationalisieren: Das in einem ersten Schritt gebildete, instabile Glycosylchlorid **181** liegt vermutlich in einem Gleichgewicht mit **178**, resp. **179** vor. Im Gegensatz zu **180** ist das Vorliegen eines Gleichgewichts aufgrund der guten Abgangsgruppeneigenschaften von Cl^- wahrscheinlich. In einem zweiten ebenfalls stereoelektronisch kontrollierten Schritt wird **179** an C(4) *syn* zur Acetamido-Gruppe axial angegriffen (axialer Angriff $\rightarrow$ pseudo-axialer Substituent); es entsteht bevorzugt das stabile Chlorid **172**. Die Entstehung von **172** lässt sich ausgehend von **178** nicht erklären.

Schema 26



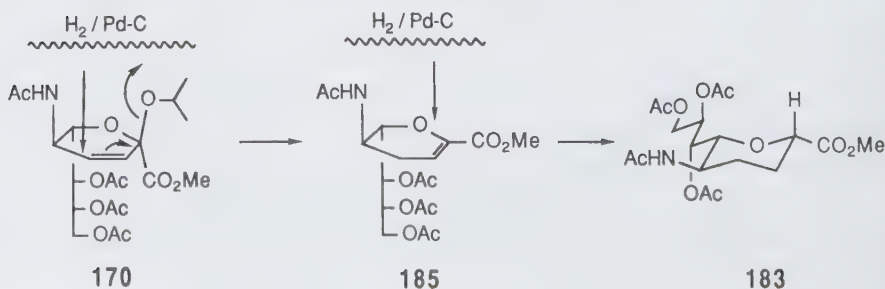
Für die weitere Synthese der N-Acetyl-4-desoxyneuraminsäure wurde das kristalline Isopropylglycosid **170** verwendet. Kat. Hydrierung von **170** in MeOH mit Pd-C (10%) ergab das gesättigte Glycosid **182** in der erstaunlich niedrigen Ausbeute von nur 67% (Schema 27). Als Nebenprodukt wurde das am anomeren Zentrum reduzierte Derivat **183** (32%) isoliert. Die Verwendung eines apolareren Lösungsmittels, wie AcOEt, erhöhte die Ausbeute des Glycosids **182** beträchtlich: **182** (92%), **183** (8%)^{9) 10)}.

Die Synthese der N-Acetyl-4-desoxyneuraminsäure **109** wurde mit der Verseifung des geschützten Glycosids **182** ($\rightarrow$ **187**, 1N NaOH, 40°C, 2 h) und der anschließenden sauren Hydrolyse des Isopropylglycosids **187** ($\rightarrow$ **109**, 0.025N HCl, 80°C, 15 Min.) abgeschlossen. Die ungeschützte N-Acetyl-4-desoxyneuraminsäure **109** wurde nach Reinigung mit Ionentauscherchromatographie an Dowex 1X8 (HCO₃⁻-Gradient) und Lyophilisierung der Produktfraktionen als weisses amorphes Pulver erhalten (85% aus **182**, Schema 27).

Die spektroskopischen Daten von **109** stimmen mit den publizierten Daten sehr gut überein [119]. Im ¹H-NMR-Spektrum von **109** werden fast ausschliesslich die Signale des β -D-Anomeren beobachtet (α -D-Anomer: <5%). Die Signale der vier Protonen an C(3) und C(4) fallen zusammen zu einem Multipllett bei 2.05-1.90 ppm. Im

⁹⁾ Die analoge kat. Hydrierung des Methylglycosids **174** (Schema 25) in MeOH ergab **184** (85%) und das Nebenprodukt **183** (13%). Ausbeuten in AcOEt als Lösungsmittel: **184** (94%), **183** (5%).

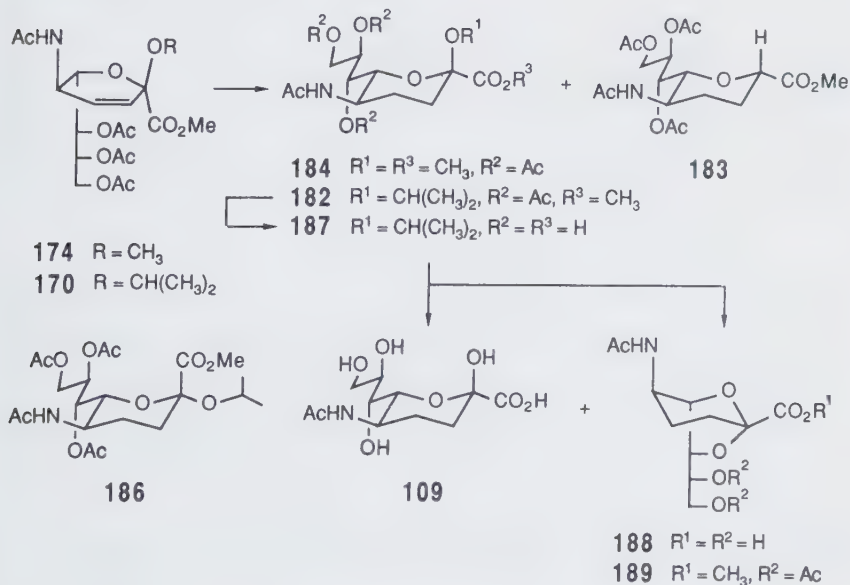
¹⁰⁾ Die Bildung des Nebenproduktes **183** entspricht formal der hydrogenolytischen Spaltung eines Allyläthers mit nachfolgender Reduktion der olefinischen Doppelbindung. Dauben et al. [169] haben am Beispiel von ψ -Santonin gezeigt, dass solche Allylätherspaltungen unter Verschiebung der Doppelbindung in Richtung der gespaltenen (C-O)-Bindung ablaufen (**170 $\rightarrow$ **185**). Die Doppelbindung wird in einem zweiten Schritt reduziert. In Analogie dazu erscheint die unten dargestellte Reaktionsfolge als wahrscheinlich, zumal bekannt ist, dass die olefinische Doppelbindung in anderen 2,3-Dehydro-Neu5Ac-Derivaten unter hydrogenolytischen Bedingungen stereospezifisch unter Bildung von Verbindungen vom Typ **183** reduziert wird [170].**



^{13}C -NMR-Spektrum erscheinen die Signale von C(3) und C(4) bei 31.1 und 24.6 ppm. Ein ausführlicher Vergleich der physikalischen Daten von **109** mit N-Acetylneuraminsäure **2** wurde bereits an anderer Stelle beschrieben [119] (s. auch Tabelle 3).

Wie bei der Hydrolyse von N-Acetyl-4-epineuraminsäureglycosiden beschrieben (Kap. 5), wurde auch bei der sauren Hydrolyse des Isopropylglycosids **187** die Bildung der 2,7-anhydro-Verbindung **188** als Nebenprodukt beobachtet, wobei die Ausbeute an **188** mit zunehmender Hydrolysezeit zunahm, während diejenige an N-Acetyl-4-desoxyneuraminsäure **109** gleichzeitig sank (Ausbeuten an **109**: 15 Min.: 85.1%; 2 h: 26.4%; 6 h: 15.1%; **188**: 15 Min.: 8.6%; 2 h: 65.2%; 6 h: 78.9%).

Schema 27



Die Struktur des 2,7-Anhydrids **188** ergibt sich aus seinen physikalischen Daten: Das FAB-Massenspektrum zeigt ein Molekülion bei m/z 276 ($[\text{M}+1]^+$), was auf eine H_2O -Abspaltung von **188** hindeutet. Der spez. Drehwert von $+63.2^\circ$ entspricht gut den Werten, die für das 2,7-Anhydrid der N-Acetyl-4-epineuraminsäure **151** ($+54.2^\circ$) und für die 2,7-Anhydro-nonulopyranose **152** ($+74^\circ$) beobachtet werden (s. Kap. 5.,

[171]). Im ^1H -NMR-Spektrum sind die Signale von H-C(6) und H-C(7) gegenüber **109** um 0.66-0.68 ppm tieffeldverschoben, während sich die chem. Verschiebung der anderen miteinander vergleichbaren Protonen nur wenig ändert. Eine entsprechende Tieffeldverschiebung beobachtet man auch im ^{13}C -NMR-Spektrum für die Signale von C(2), C(6) und C(7) ($\Delta\delta(\mathbf{188-109}) = 7.8\text{-}10.4$ ppm). Diese Daten sind mit dem Vorliegen einer 2,7-Anhydrobrücke vereinbar (vgl. Kap. 5.). Die spektroskopischen Daten von **109** und **188** sind in Tabelle 3 zusammengefasst. Die Struktur von **188** wurde zusätzlich durch die Überführung in das Triacetat **189** gesichert.

Tabelle 3 ¹H- und ¹³C-NMR Daten von Neu5Ac-Derivaten

¹ H-NMR: chem. Verschiebung δ [ppm]											
Verbindung	H-3e	H-3a	H-4e	H-4a	H-5	H-6	H-7	H-8	H-9	H-9´	NH
2	2.31	1.87	-	4.06	3.92	4.05	3.55	3.74	3.83	3.61	a)
102	2.12	2.07	4.13	-	4.07	4.29	3.51	3.73	3.78	3.56	a)
109	2.05	-----	-----	1.90	4.05	3.97	3.57	3.77	3.84	3.62	a)
151	2.55	2.03	-	4.52	4.47	4.87	4.32	3.75	3.90	3.75	a)
153	2.40	1.95	-	5.30	4.56	4.47	4.34	4.93	4.55	4.12	5.89
188	1.91	1.99	1.75	2.16	3.91	4.65	4.23	3.59	3.76	3.62	a)
189	1.97	-----	1.72	2.12	4.10	3.37	4.27	4.96	4.54	4.15	6.17
¹ H-NMR: Kopplungskonstanten [Hz]											
Verbindung	J _{3e,3a}	J _{3e,4}	J _{3a,4}	J _{4,5}	J _{5,6}	J _{6,7}	J _{7,8}	J _{8,9}	J _{8,9´}	J _{9,9´}	J _{5,NH}
2	13.1	5.0	11.6	10.0	10.2	0.7	9.2	2.6	6.2	11.8	10.2
102	14.7	3.1	3.3	3.1	10.9	1.2	9.1	2.8	6.2	11.7	10.9
109	b)	b)	b)	b)	b)	~0	9.2	2.7	6.3	11.8	b)
151	13.4	6.0	10.8	6.0	1.2	~0	6.8	b)	b)	b)	b)
153	13.4	6.3	11.2	5.0	2.3	~0	8.3	2.6	4.1	12.4	8.9
188	c)	c)	c)	c)	c)	c)	c)	c)	c)	c)	c)
189	b)	b)	b)	b)	b)	b)	b)	b)	b)	b)	b)
¹³ C-NMR: chem. Verschiebung δ [ppm]											
Verbindung	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	C-8	C-9	NHAc	NHAc
2	175.3	95.7	39.2	67.1	52.5	70.6	68.7	70.9	63.6	173.5	22.5
102	174.5	95.5	36.5	66.4	48.0	66.1	68.9	70.4	63.6	173.5	22.6
109	174.7	94.8	31.1	24.6	44.9	70.4	68.7	71.7	63.6	174.4	22.4
151	174.9	104.8	37.0	62.7	50.7	79.1	77.9	71.7	62.3	170.3	22.4
153	166.0	103.4	34.0	64.4	47.3	79.3	75.6	70.3	61.4	170.5	22.9
188	174.0	105.6	28.2	21.5	46.2	79.2	78.8	71.8	62.4	170.9	22.3
189	166.9	105.2	27.9	22.1	44.8	79.5	76.5	70.7	61.7	170.5	23.1

a) Proton wurde in D₂O ausgetauscht. b) Diese Kopplungskonstante konnte wegen der Komplexität des entsprechenden Signals (höh. Ordnung) oder wegen der Überlappung mit anderen Signalen nicht bestimmt werden.

c) Diese Kopplungskonstanten wurden durch Simulation auf Aspect 2000 (Bruker) mit dem Panic-Programm bestimmt:

J _{3e,3a} = -14.3	J _{3e,4a} = +6.2	J _{3e,4e} = +1.1	J _{3e,5} = +0.6
J _{3a,4a} = +12.7	J _{3a,4e} = +5.9	J _{4a,4e} = -14.9	J _{4a,5} = +5.4
J _{4e,5} = +1.9	J _{4e,6} = +1.9	J _{5,6} = +1.8	J _{6,7} = +0.8
J _{7,8} = +7.4	J _{8,9} = +3.0	J _{8,9'} = +5.9	J _{9,9'} = -11.9

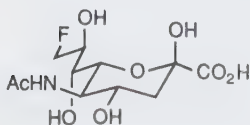
8. Versuche zur Synthese der N-Acetyl-4-desoxy-4-fluor-neuraminsäure

8.1. Einleitung

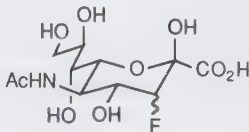
Kohlenhydrate, in denen bestimmte Hydroxylgruppen selektiv durch Fluor-Atome substituiert wurden, sind ausgezeichnete Sonden für die Untersuchungen vieler biochemischer Vorgänge (Enzym-Kohlenhydrat-Wechselwirkung, Lectin-Kohlenhydrat-Affinität, Antikörper-Kohlenhydrat-Bindung, etc. [8, 172-175]). Insbesondere die biologische Aktivität von Glycosiden kann durch selektive Fluorierung im Kohlenhydrateil stark modifiziert werden [176].

Fluor ist das Halogen, dessen van-der-Waals-Radius dem des Wasserstoffatoms am nächsten kommt ($F = 1.35$; $H = 1.1 \text{ \AA}$). Die hohe Elektronegativität von Fluor (4.0 verglichen mit 3.5 für Sauerstoff) übt einen grossen Einfluss auf die Elektronenverteilung im Molekül und damit auf die Reaktivität der benachbarten funktionellen Gruppen aus. Als Folge der hohen Elektronendichte am Fluor können Fluor-Substituenten als Wasserstoff-Brücken-Akzeptoren fungieren [177]. Zieht man zusätzlich in Betracht, dass die (C-F)-Bindungslänge $1.39 \text{ \AA}$ und die (C-O)-Bindungslänge $1.43 \text{ \AA}$ beträgt, wird die grosse Ähnlichkeit von Fluor-Substituenten mit Hydroxyl-Gruppen deutlich.

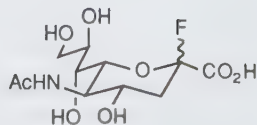
Analoge der N-Acetylneuraminsäure sind für die Untersuchungen der an ihrem Metabolismus beteiligten Enzyme von grosser Bedeutung. Bis heute wurden nur wenige Fluor-Analoge von Neu5Ac **2** hergestellt (**190** [178], **191** [179] und **192** [180]) und auf ihre biologische Aktivität untersucht.



190



191



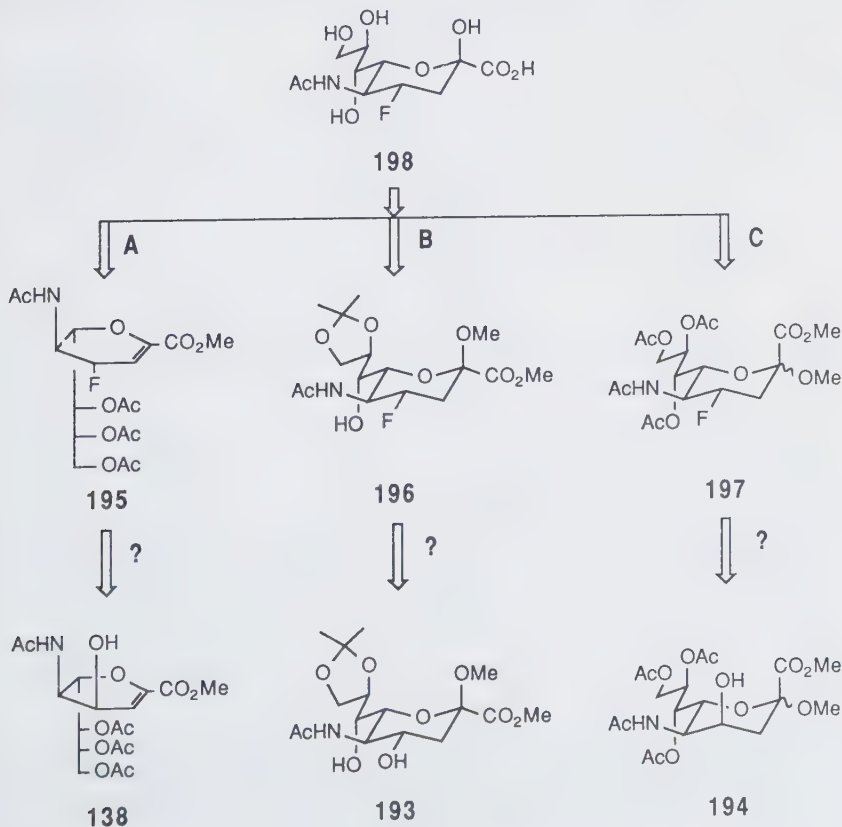
192

Im Kap. 1.5. wurde die Bedeutung der äquatorialen C(4)-OH-Gruppe von Neu5Ac **2** für die Spaltung der α -D-glycosidischen Bindung von Neu5Ac-Glycosiden durch Sialidasen beschrieben. Bisherige Untersuchungen haben gezeigt, dass Glycoside,

in denen die Hydroxyl-Gruppe an C(4) fehlt oder durch eine Acetoxy- oder Methoxy-Gruppe ersetzt wurde, nicht an das aktive Zentrum der Sialidasen gebunden und damit nicht gespalten werden. 4-Desoxy-4-fluor-Neu5Ac-Glycoside könnten deshalb als isostere Analoge von Neu5Ac-Glycosiden für eine detailliertere Abklärung der Funktion der C(4)-OH-Gruppe sehr nützlich sein.

Die Synthese von 4-Desoxy-4-fluor-Neu5Ac **198** könnte von den aus Neu5Ac **2** gut zugänglichen, an C(4) selektiv ungeschützten Verbindungen **138**, **193** oder **194** ausgehen (Schema 28). Eine selektive Fluorierung an C(4) unter Inversion (**138**, **194**), bzw. Retention (**193**) der Konfiguration würde zu den Fluor-Derivaten **195-197** führen, die anschliessend mit bekannten Methoden in das gewünschte Produkt **198** übergeführt werden könnten.

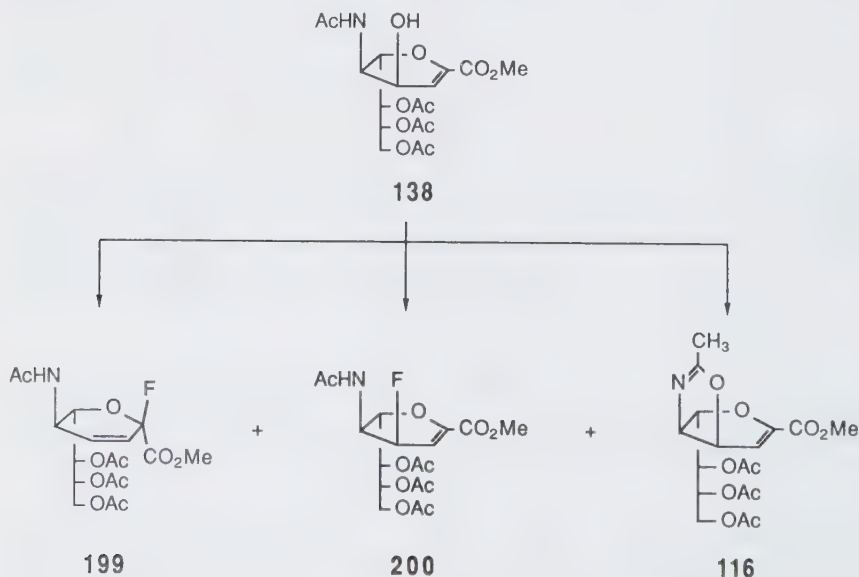
Schema 28



8.2. Ergebnisse und Diskussion

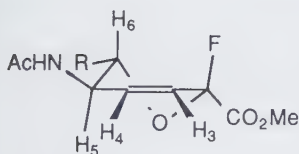
Weg A: Diäthylamino-schwefeltrifluorid (DAST) ist ein mildes Fluorierungsreagenz, das in einfachen Fällen (keine Nachbargruppenbeteiligung) eine direkte (d.h. ohne Isolierung von Zwischenprodukten) Überführung von Alkoholen in die entsprechenden Fluoride unter Inversion der Konfiguration am Reaktionszentrum erlaubt [181]. Die Umsetzung des aus der Synthese der N-Acetyl-4-epineuraminsäure **102** bekannten Glycals **138** (vgl. Kap. 5 und [129]) mit einem Überschuss an DAST (4 Äquiv., $-20^{\circ}\text{C}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) führte nicht zu einem einheitlichen Produkt, sondern zu einem Gemisch aus **199**, **200** und **116** (Schema 29). Nach vorsichtiger Aufarbeitung (0°C) und Trennung mit präp. HPLC wurde **199** in 64% Ausbeute isoliert, während **200** und **116** als ein mit HPLC nicht trennbares (2:1)-Gemisch erhalten wurden. Eine selektive saure Hydrolyse von **116** zu **138** ($\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}/\text{H}_2\text{O}/\text{THF}$) liess das Produkt **200** intakt, das nun leicht nach Reinigung mit Flash-Chromatographie in einer Ausbeute von 18% kristallin gewonnen wurde.

Schema 29



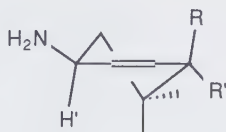
Die Konstitution der Fluoride **199** und **200** liess sich aus den spektroskopischen Daten ableiten (^1H - und ^{13}C -NMR). Die ^1H - ^{19}F - und ^{13}C - ^{19}F -Kopplungen sind in

Tabelle 4 zusammengefasst. Die β -D-Konfiguration des Glycosylfluorids **199** ergibt sich aus der Messung eines deutlichen heteronuklearen NOE-Effektes von 6% zwischen den axialen Substituenten H-C(6) und F-C(2). Im ^1H -NMR-Spektrum wird das Signal von H-C(5) durch eine homoallylische, heteronukleare $^5J_{\text{H-C(5),F}}$ -Kopplung (10 Hz) mit dem Fluor-Substituenten an C(2) in ein Dublett aufgespalten. Homoallylische $^5J_{\text{H,F}}$ -Kopplungen zeigen eine vergleichbare Grösse und die gleiche Konformationsabhängigkeit wie homonukleare, homoallylische $^5J_{\text{H,H}}$ -Kopplungen [182, 183]. Girault et al. [184] haben die epimeren Aminofluoride **201** und **202** hergestellt und die $^5J_{\text{H,F}}$ -Konstanten bestimmt (s. unten). Ein Vergleich dieser Referenzdaten mit denjenigen von **199** bestätigt die Konfigurationszuordnung an C(2). In Verbindung **200** ist die pseudo-axiale Lage des Fluor-Substituenten an C(4) aufgrund der für ähnliche Glycale typischen $J_{3,4}$ -Kopplungskonstante (5.7 Hz) im ^1H -NMR-Spektrum (s. Glycal-Regel, Kap. 4.2.) und der von der Stereochemie stark abhängigen ^1H - ^{19}F -Kopplungskonstanten (vgl. [185]) gesichert.



199

($^5J_{\text{H-5,F}} = 10.0 \text{ Hz}$)

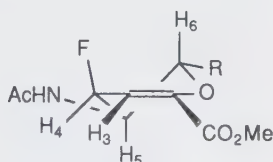


201

R = F, R' = H,
($^5J_{\text{H',F}} = 8.5 \text{ Hz}$)

202

R = H, R' = F
($^5J_{\text{H',F}} = 4.5 \text{ Hz}$)



200

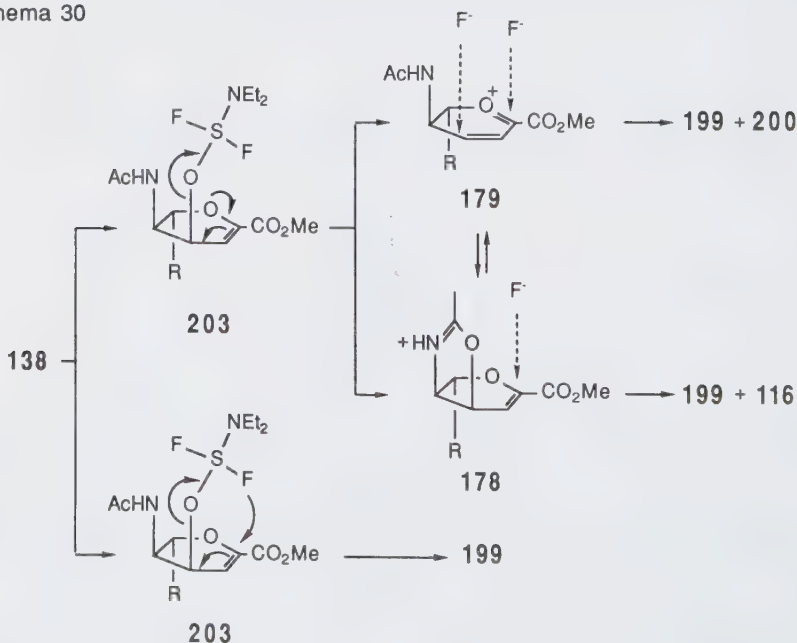
Tabelle 4 Heteronukleare Kopplungskonstanten $J_{\text{F,H}}$ und $J_{\text{F,C}}$ von **199** und **200**

Verbindung	Kopplungskonstanten $J_{\text{F,H}}$ und $J_{\text{F,C}}$ [Hz]								
	$J_{\text{F,H3}}$	$J_{\text{F,H4}}$	$J_{\text{F,H5}}$	$J_{\text{F,H6}}$	$J_{\text{F,C1}}$	$J_{\text{F,C2}}$	$J_{\text{F,C3}}$	$J_{\text{F,C4}}$	$J_{\text{F,C5}}$
199	1.7	2.5	10.0	0.5	34.9	224.5	27.9	8.1	0.0
200	2.0	51.0	25.0	3.6	1.7	9.2	15.6	173.3	17.1

Für die Bildung der Produkte **199**, **200** und **116** erscheint der im Schema 30 dargestellte Mechanismus plausibel: Die selektiv geschützte Verbindung **138** reagiert

mit DAST zunächst zum (instabilen) Additionsprodukt **203**, das zu **179** fragmentiert. Das Vinyloxoniumion **179** steht vermutlich im Gleichgewicht mit dem Oxazoliniumion **178**. In Analogie zu den im Kap. 7 beschriebenen nucleophilen Additionen von Hydroxyverbindungen an **178** und **179** werden die Fluoride **199** und **200** in einer stereokontrollierten Addition von F^- an C(2), resp. C(4) von **178** und **179** gebildet (Für eine detaillierte Begründung vgl. Kap. 7, s. auch Schema 26). Das Hauptadditionsprodukt ist das Glycosylfluorid **199**, das im Gegensatz zum Glycosylchlorid **181** (vgl. Schema 26) stabil ist und isoliert werden kann. Da die Bildung von **200** nur ausgehend von **179** und die Bildung von **116** nur ausgehend von **178** erklärt werden kann, muss für die Entstehung des Hauptproduktes **199** ein gemischter S_N1'/S_N2' -Reaktionsmechanismus angenommen werden. Als Konkurrenzreaktion ist eine direkte intramolekulare Fluorierung an C(2) in einem der Retro-En-Reaktion ähnlichen Schritt (**203**→**199**) ebenfalls denkbar.

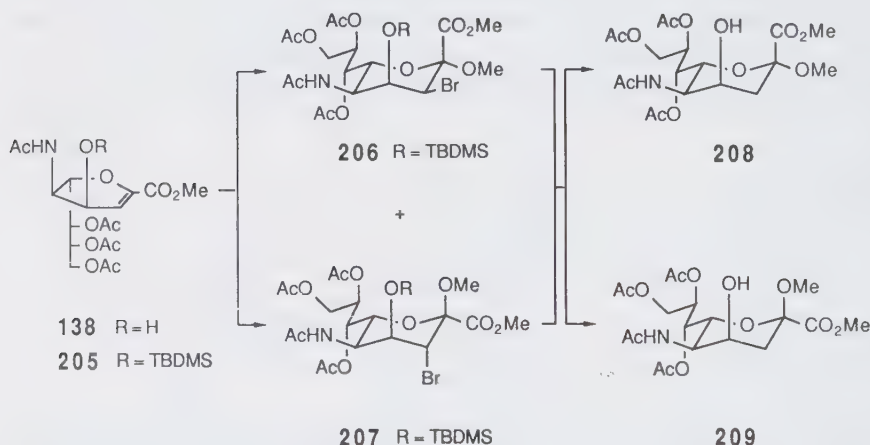
Schema 30



Die Umsetzungen von **138** mit DAST führten auch bei tiefer Temperatur (-80°C) und in Gegenwart von CsF als Fluoridquelle nicht zum gewünschten Produkt.

bindung **138** wurde zunächst mit *t*-Butyldimethylsilylchlorid (Imidazol/DMF) in das silylierte Derivat **205** übergeführt (88%). Ein temporärer Schutz der C(4)-OH-Gruppe war notwendig, nachdem die direkte Bromalkoxylierung von **138** nur Zersetzungsprodukte ergab. Die Bromalkoxylierung von **205** (NBS, MeOH, RT, 2 h) ergab ein chromatographisch nicht trennbares Gemisch der Bromide **206** und **207** im Verhältnis 7:5. Dieses Gemisch wurde mit $\text{Bu}_3\text{SnH/AIBN}$ in Toluol bei 90°C debromiert und mit $\text{Bu}_4\text{NF} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ in THF entsilyliert. Die Produkte **208** und **209** wurden nach Auftrennung mit präp. HPLC in 42, resp. 46% Ausbeute erhalten (Schema 32).

Schema 32



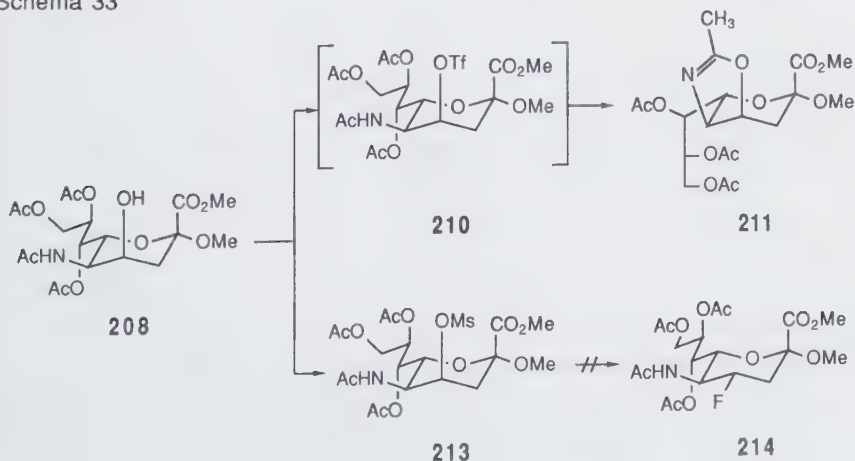
Die Konfiguration an C(2) der Glycoside **208** und **209** wurde wieder mit Hilfe der von Paulsen et al. [152] eingeführten empirischen Regel für die aus den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der acetylierten Neu5Ac-Glycoside ersichtlichen $J_{7,8}$ -Kopplungskonstanten zugeordnet. Für α -D-Glycoside von **2** werden Werte von 6.2-8.2 Hz und für β -D-Glycoside Werte von 2.4-2.6 Hz gefunden. Die entsprechende Kopplungskonstante in den 4-*epi*-Neu5Ac-Glycosiden **208** und **209** beträgt 8.0, bzw. 3.6 Hz. Als zweites Zuordnungskriterium kann die chem. Verschiebungsdifferenz $\Delta\delta[\text{H-C}(9)\text{-H-C}(9')]$ herangezogen werden. Dieser Wert ist von der Konfiguration an C(2) abhängig und beträgt in (acetylierten) α -D-Glycosiden 0.2-0.3 ppm und in β -D-Glycosiden 0.9-1.2 ppm [74, 186]. Für die Glycoside **208** und **209** wird eine chem. Verschiebungsdifferenz $\Delta\delta[\text{H-C}(9)\text{-H-C}(9')]$ von 0.22, resp. 0.76 ppm gefunden.

Die Umsetzungen von **208** und **209** mit DAST verliefen enttäuschend: Die Verbindungen **208** und **209** waren unter den untersuchten Reaktionsbedingungen ($-80^{\circ}\text{C} \rightarrow +25^{\circ}\text{C}$, CH_2Cl_2 oder CH_3CN) in Gegenwart von DAST ausserordentlich instabil und es wurden nur undefinierbare Produktgemische isoliert.

Obwohl DAST in vielen Fällen das Reagenz der Wahl ist, sind fluoriierte Kohlenhydrate vielfach in zwei Stufen über die entsprechenden Triflate oder Mesylate und eine nachfolgende nucleophile Substitution durch F^- (CsF , Tetrabutylammoniumfluorid, etc.) hergestellt worden [181].

Die Triflierung des selektiv geschützten Glycosids **208** mit Pyridin/ TiF_2O bei 0°C ergab nach vorsichtiger Aufarbeitung (0°C) und Chromatographie in 61% Ausbeute ein Produkt, das keine Triflat-Gruppe enthielt. Mit Hilfe der untenstehenden Daten wurde dem neuen Produkt die im Schema 33 angegebene Struktur **211** zugeordnet: Im ^1H -NMR wird eine homoallylische ^5J -Kopplung (1.2 Hz) zwischen H-C(5) und der Methyl-Gruppe des Oxazolinringes beobachtet. Diese charakteristische "long-range"-Kopplungskonstante wird auch in den Neu5Ac-Oxazolininen **116** ($^5\text{J} = 0.9$ Hz, vgl. Kap 4.2.) und **212** ($^5\text{J} = 1.2$ Hz, vgl. Kap. 9.2.) gefunden. Im ^{13}C -NMR fehlt das Signals der C(5)-Acetamido-Gruppe, das in Neu5Ac-Derivaten gewöhnlich bei ~ 23 ppm erscheint; statt dessen findet man die Methyl-Gruppe des Oxazolinringes als ein Quartett bei 13.7 ppm. Auch dieser Wert ist für eine solche Methylgruppe charakteristisch; so erscheinen die entsprechenden Signale der Oxazoline **116** und **212** bei 13.95, bzw. 13.92 ppm.

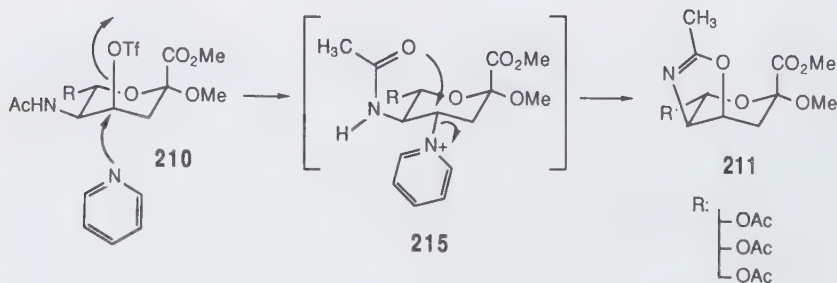
Schema 33



Im Gegensatz zum instabilen Triflat **210** liess sich das entsprechende Mesylat **213** in befriedigender Ausbeute (49%) herstellen (Schema 33). Die Umsetzungen von **213** mit CsF oder TBAF führten aber unter verschiedenen Reaktionsbedingungen (RT $\rightarrow$ 100°C, DMF, DMSO, CH₃CN) nicht zum fluoriertem Produkt **214**. Das Mesylat **213** zersetzte sich oberhalb von 50°C zu einem undefinierbaren Produktgemisch.

Die Entstehung des Oxazolins **211** aus **208** in Gegenwart von Tf₂O/Pyridin verläuft formal unter Retention der Konfiguration an C(4). Ein möglicher Reaktionsmechanismus für diese etwas ungewöhnliche Umsetzung ist im Schema 34 dargestellt: Das intermediär gebildete Triflat **210** ist vermutlich aufgrund der sehr guten Abgangsgruppeneigenschaften von Triflat-Gruppen und aufgrund der axialen Lage der C(4)-OH-Gruppe recht instabil. Es wird leicht von dem in der Lösung vorhanden Pyridin an C(4) S_N2-artig angegriffen, wobei das an C(4) äquatorial substituierte Pyridinium-Kation **215** gebildet wird. Unter Beteiligung der C(5)-Acetamido-Gruppe zyklisiert das Kation **215** unter Ausstossen von Pyridin zum Oxazolin **211**. Die ausgesprochen leichte Bildung von Oxazolinen wie **211** durch einen intramolekularen nucleophilen Angriff der C(5)-Acetamidogruppe an C(4) wurde bereits von Hagedorn und Brossmer [121] an der N-Acetyl-4-desoxy-4-iodneuraminsäure beobachtet. Die formale Retention der Konfiguration an C(4) ist damit das Resultat einer zweifachen Inversion. Eine doppelte Inversion unter Beteiligung der C(7)-OAc-Gruppe muss ebenfalls in Betracht gezogen werden.

Schema 34

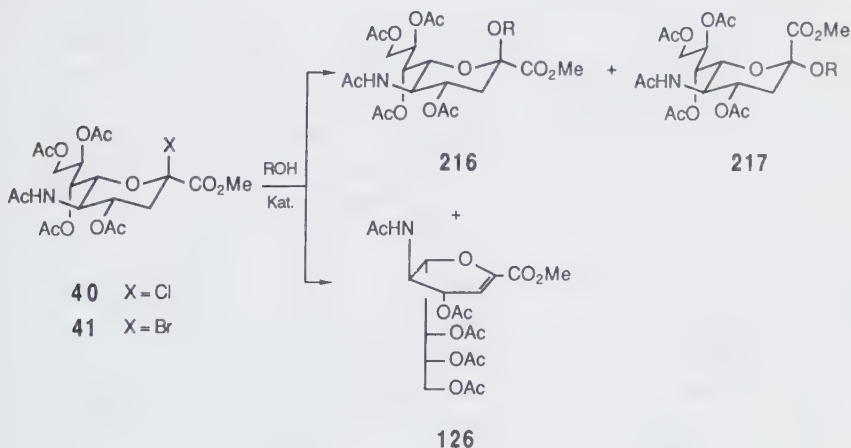


9. Stereoselektive Synthese von β -D-Glycosiden der N-Acetylneuraminsäure

9.1. Einleitung

Die stereoselektive Glycosidierung von N-Acetylneuraminsäure **2** mit anderen Kohlenhydraten zu α -D-glycosidisch verknüpften Produkten stellt eine der grössten Hürden bei der Synthese von Sialooligosacchariden und Sialoglycolipiden wie z.B. Gangliosiden dar. Bei der Glycosidierung von Neu5Ac **2** werden Glycosyl-Donoren wie **40** oder **41** verwendet, die aus Pentaacetylneuraminsäure-methylester **125** mit Acetylchlorid/HCl [67] oder TiCl_4 , bzw. TiBr_4 [68] in 80-95% Ausbeute zugänglich sind. Die Umsetzung von **40**, bzw. **41** mit selektiv geschützten Kohlenhydraten in Gegenwart von Lewis-Säuren (AgOTf , Ag_2CO_3 , HgBr_2 , $\text{Hg}(\text{CN})_2$) ergibt die Glycoside **216** und **217** in nur kleinen Ausbeuten (16-32%) und mit geringer Stereoselektivität ($\alpha:\beta$ 1:1 $\rightarrow$ 2:1) (Schema 35, vgl. auch Kap. 1.4.).

Schema 35



Das Fehlen von Substituenten an C(3) in **40** oder **41** wirkt sich auf die Glycosidierung doppelt aus: Zum einen neigen die Glycosylhalogenide **40** und **41**, besonders bei wenig reaktiven Glycosyl-Akzeptoren, zur Eliminierung von HCl, resp. HBr. Das 2,3-Dehydro-Neu5Ac-Derivat **126** wird dabei als Hauptprodukt in 30-60% Ausbeute erhalten. Zum anderen kann die Stereoselektivität der Glycosidierung ohne nach-

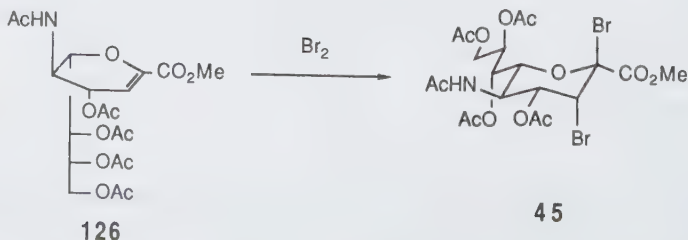
bargruppenaktive Substituenten an C(3) nicht entscheidend beeinflusst werden. In der Regel werden α -D- und β -D-Glycoside in äquimolaren Mengen erhalten.

In vorhergehenden Kapiteln wurde die Haloalkoxylierung von 2,3-Dehydro-Neu5Ac **126** und ihren 4-*epi*-Analogen **141** und **205** beschrieben. Es wurde gezeigt, dass **126** leicht in Neu5Ac-Derivate übergeführt werden kann, die an C(2) und C(3) umfunktionalisiert sind. In Analogie dazu sollte die Addition von Br_2 an **126** das 2,3-Dibromid **45**¹¹ ergeben (Schema 36), das als Glycosyl-Donor in der Glycosidierung von Neu5Ac **2** eingesetzt werden könnte. Die Einführung eines nach der Glycosidierung reaktiv abspaltbaren axialen Brom-Substituenten an C(3) sollte die störende Eliminierung von HBr verhindern. Da Brom-Substituenten gleichzeitig nachbargruppenaktiv sind [187, 188, 189], ist eine deutliche Erhöhung der Stereoselektivität, allerdings zugunsten der Bildung von β -D-Glycosiden als möglicher Nachteil zu berücksichtigen.

9.2. Ergebnisse und Diskussion

Das aus Neu5Ac **2** in drei Stufen (69%) zugängliche 2,3-Dehydro-Neu5Ac-Derivat **126** (vgl. Kap. 4.2.) wurde bei Raumtemperatur in $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ (4:1) mit einem Überschuss an Br_2 (1.8 Äquiv.) umgesetzt (Schema 36). Die Reaktion war nach wenigen Minuten abgeschlossen. Im Gegensatz zu den im Kap. 4.3. beschriebenen Bromalkoxylierungen (NBS/ROH) von **126**, die jeweils Diastereomerengemische ergaben, führte die Brom-Addition an **126** zu einem einheitlichen Produkt. Das kristalline Dibromid **45** wurde in hoher Ausbeute (89%) erhalten und war bei RT während Tagen stabil.

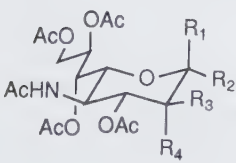
Schema 36



¹¹ Gleichzeitig und unabhängig von uns haben Goto et al. [73] das Dibromid **45** hergestellt und als Glycosyl-Donor eingesetzt (vgl. auch Kap. 1.4.).

Die trans-diaxiale Lage der Brom-Substituenten an C(2) und C(3) in **45** liess sich aus dem ^1H -NMR-Spektrum bestimmen: Während die vicinale Kopplungskonstante $J_{3,4} = 3.5 \text{ Hz}$ eindeutig die axiale Lage des Brom-Substituenten an C(3) festlegt, lässt sich die β -D-Konfiguration an C(2) nur durch einen Vergleich mit den Spektren der bekannten Glycosylhalogenide **40**, **41**, **42** und **218** (vgl. Tabelle 5, [180, 66]) ableiten. Die ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren dieser Verbindungen fallen durch die grosse Ähnlichkeit der chem. Verschiebungswerte (^1H , ^{13}C) und der Kopplungskonstanten (^1H) auf. Offenbar weisen diese Verbindungen sehr ähnliche Konformationen auf. Ein Unterschied wurde lediglich in der Kopplungskonstante $J_{7,8}$ festgestellt (vgl. Tabelle 5).

Tabelle 5 Vergleich der Kopplungskonstanten $J_{7,8}$ in Neu5Ac-Glycosylhalogeniden

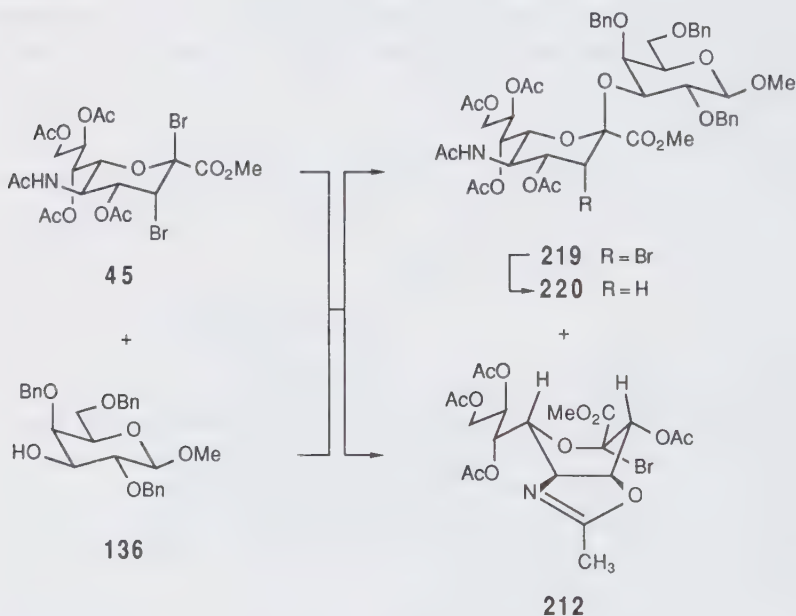
Verbindung		$J_{7,8}[\text{Hz}]$
	40 $\text{R}^1=\text{Cl}, \text{R}^2=\text{CO}_2\text{Me}, \text{R}^3=\text{R}^4=\text{H}$	6.4
	41 $\text{R}^1=\text{Br}, \text{R}^2=\text{CO}_2\text{Me}, \text{R}^3=\text{R}^4=\text{H}$	6.6
	42 $\text{R}^1=\text{F}, \text{R}^2=\text{CO}_2\text{Me}, \text{R}^3=\text{R}^4=\text{H}$	6.7
	45 $\text{R}^1=\text{R}^4=\text{Br}, \text{R}^2=\text{CO}_2\text{Me}, \text{R}^3=\text{H}$	7.3
	218 $\text{R}^1=\text{CO}_2\text{Me}, \text{R}^2=\text{F}, \text{R}^3=\text{R}^4=\text{H}$	0.0

Während die β -D-Glycosylhalogenide **40**, **41**, **42** und **45** für diese Kopplungskonstante Werte von 6.4-7.3 Hz aufweisen, findet man für die gleiche Kopplungskonstante beim α -D-Glycosylfluorid **218** den Wert Null [180]. Dem Dibromid **45** wurde deshalb die β -D-Konfiguration zugeordnet. Diese Zuordnung wird durch einen Vergleich der spez. Drehwerte von **45** (-57°) mit **40** (-63° [180]) erhärtet; der spez. Drehwert des β -D-Glycosylbromids **41** wurde nicht publiziert.

Die Glycosidierung der N-Acetylneuraminsäure mit Galactose und Lactose zu den entsprechenden (2'→3) Disacchariden, bzw. (2'→3') Trisacchariden ist im Hinblick auf die weite Verbreitung dieser Strukturelemente in Glycoproteinen und Gangliosiden von grosser Bedeutung [2]. Die Reaktivität des Dibromids **45** wurde deshalb an den Glycosyl-Akzeptoren **136** (Schema 37) und **137** (Schema 39) getestet.

Die Glycosidierung von **45** mit Methyl 2,4,6-tri-O-benzyl- β -D-galactopyranosid **136** [190] in 1,2-Dichloräthan und in Gegenwart von AgOTf (2 Äquiv.) und Molekularsieb 4Å lieferte nach 24 h bei RT zwei Produkte: Das (2 β -Neuraminyl)-galactopyranosid **219** (48%) und das Oxazolin **212** (18%). Daneben wurden nur Zersetzungsprodukte beobachtet (Schema 37).

Schema 37



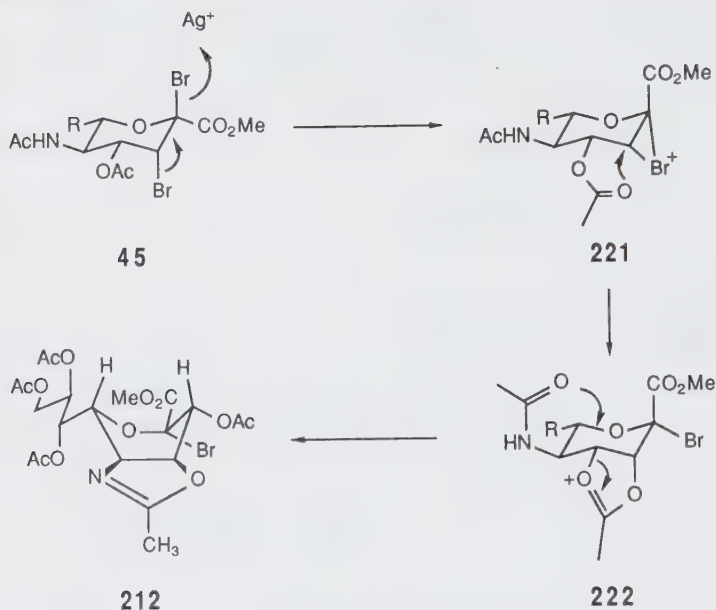
Radikalische Reduktion des 3-Brom-Glycosids **219** mit Tributylzinnhydrid und AIBN (Toluol/100°C) ergab in 96% Ausbeute die debromierte Verbindung **220**. Die Konfiguration am anomeren Zentrum von **219** und **220** wurde aus den ¹H-NMR-Spektren anhand der bereits bewährten, empirischen Regel von Paulsen et al. [152] abgeleitet. Nach dieser Regel beträgt die Kopplungskonstante $J_{7,8}$ bei β -D-Glycosiden 2.4-2.6 Hz und bei α -D-Glycosiden 6.2-8.2 Hz. Die entsprechenden Konstanten in **219** (2.2 Hz) und **220** (2.1 Hz) stimmen mit den beobachteten Werten für β -D-Glycoside gut überein. Eine weitere Zuordnungshilfe stellt der Wert $\Delta\delta[\text{H-C}(9)\text{-H-C}(9')]$ dar. Dieser Wert kann wie die $J_{7,8}$ -Kopplungskonstante in acetylierten Neu-5Ac-Glycosiden mit der Konfiguration an C(2) korreliert werden; er beträgt bei β -D-

Glycosiden 0.9-1.2 ppm und bei α -D-Glycosiden 0.2-0.3 ppm [74, 186]. In **219** und **220** wird für die chem. Verschiebungsdifferenz $\Delta\delta[\text{H-C}(9)\text{-H-C}(9')]$ ein Wert von 1.22, bzw. 0.99 ppm gefunden. Die vollständigen ^1H -NMR-Daten des N-Acetylneuraminyl-Restes von **219** und **220** sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

Die Struktur des Nebenproduktes **212** wurde aus den nachfolgenden phys. Daten abgeleitet: Aufgrund der Elementaranalyse ($\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{BrNO}_{12}$) und des Massenspektrums (CI), in dem der $[\text{M}+1]^+$ -Molekularpeak als ein Dublett bei m/z 552 und 554 beobachtet wird, ist **212** das Produkt einer formalen HBr-Abspaltung von **45**. Im ^{13}C -NMR-Spektrum können vier O-Acetyl- und eine Carboxymethyl-Gruppe gezählt werden. Anstelle des Methyl-Signals einer Acetamido-Gruppe (~ 23 ppm) wird das charakteristische Quartett für die Methyl-Gruppe eines 2-Methyl-Oxazolins bei 14.0 ppm gefunden (vgl. 13.9 ppm für das Oxazolin **116**). Die Ausbildung eines Oxazolinringes lässt sich im ^1H -NMR-Spektrum aufgrund der Aufspaltung von H-C(5) in ein Quartett durch eine "long-range"-Kopplung ($^5J = 1.2$ Hz) mit der Methyl-Gruppe des Oxazolins untermauern. Während die C_3 -Seitenkette unverändert geblieben ist (^1H -, ^{13}C -NMR), beobachtet man im ^{13}C -NMR eine deutliche Verschiebung zum tieferen Feld für die Signale von C(2) (**45**→**212**: 91.7→96.1 ppm) und C(3) (**45**→**212**: 52.9→65.0 ppm). Diese Daten sind konsistent mit der Annahme eines O-Acetyl-Substituenten an C(3) und eines Brom-Substituenten an C(2). Die durchgehend grossen ^1H -NMR-Kopplungskonstanten von 9-11 Hz zwischen den Protonen H-C(3), H-C(4), H-C(5) und H-C(6) (Tabelle 6) lassen sich erklären, wenn für **212** die D-erythro-L-altro-Konfiguration und gleichzeitig die $^{3,6}\text{B}$ -Konformation für den Tetrahydropyranring angenommen wird. Die Annahme für das Vorliegen dieser Boot-Konformation basiert abgesehen von den oben erwähnten Kopplungskonstanten auf der Messung eines deutlichen NOE-Effekts von 12% zwischen H-C(3) und H-C(6). Die Konfiguration am anomeren Zentrum wurde aufgrund der Änderung der chem. Verschiebung des Signals von C(2) (**45**→**212**: 91.7→96.1 ppm) abgeleitet. Es ist bekannt, dass entsprechende Signale in α -D-Glycosylhalogeniden zu tieferem Feld verschoben werden [180].

Ein plausibler Mechanismus für die Bildung von **212** wird im Schema 38 vorgestellt: Die Abspaltung des axialen Brom-Substituenten vom anomeren Zentrum mit AgOTf führt über das Bromonium-Kation **221** zum Acyloxonium-Kation **222**. Die nachbargruppenaktive C(5)-Acetamido-Gruppe öffnet anschliessend das Kation **222** unter Inversion der Konfiguration an C(4) zum Oxazolin **212**.

Schema 38

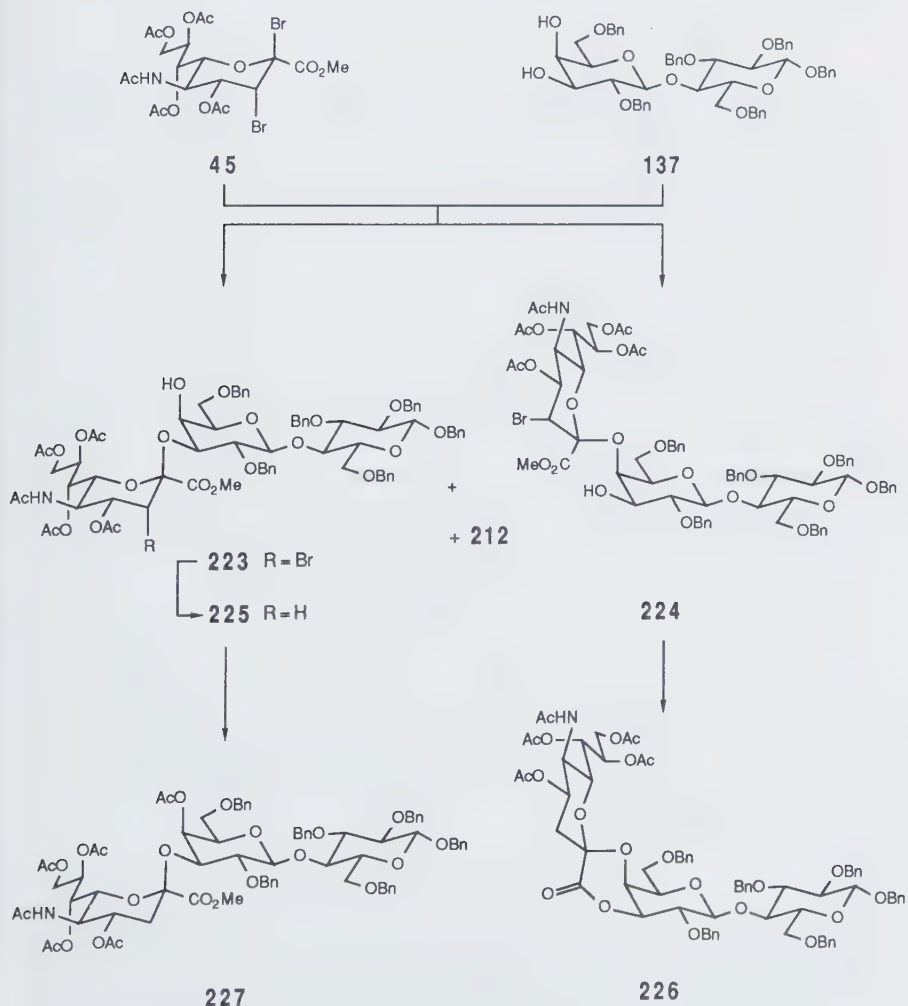


Für die Glycosidierung von **45** mit Lactose wurde das Lactose-Derivat **137** (Schema 39) als Glycosyl-Akzeptor gewählt. In der Verbindung **137** lassen sich sowohl C(3')-OH als auch C(4')-OH glycosidieren [191, 192]. Paulsen et al. [192] haben gezeigt, dass die C(3')-OH-Gruppe erheblich reaktiver ist als die C(4')-OH-Gruppe und dass sich die Regioselektivität der Glycosidierung wenigstens in gewissen Grenzen durch die Wahl des Katalysators und des Lösungsmittels steuern lässt. Mit löslichen Katalysatoren, wie AgOTf , reagiert bevorzugt die C(3')-OH-Gruppe, während mit unlöslichen Katalysatoren, wie Silbersilikat, an C(4')-OH glycosidiert wird.

Das Dibromid **45** wurde mit dem selektiv geschützten Lactose-Derivat **137** in Gegenwart von AgOTf (2 Äquiv.) und Molekularsieb $4\text{\AA}$ in 1,2-Dichloräthan umgesetzt (RT / 24 h). Nach Chromatographie wurden drei Produkte erhalten: die Trisaccharide **223** (37%) und **224** (19%) und das Oxazolin **212** (15%) (vgl. Schema 39). Anhand der Kopplungskonstante $J_{7'',8''}$ (**223**: 2.1 Hz; **224**: 3.5 Hz) und der chem. Verschiebungsdifferenz $\Delta\delta[\text{H-C}(9)-\text{H-C}(9')]$ (**223**: 0.97 ppm; **224**: 1.22 ppm (vgl. oben und [74, 186]) im ^1H -NMR-Spektrum von **223** und **224** wurden beide Produkte als β -D-Glycoside identifiziert (s. Tabelle 6). Es wurden keine α -D-Glycoside beobachtet. Die

Regioselektivität der Glycosidierung konnte auf dieser Stufe nicht bestimmt werden. Die Glycoside **223** und **224** wurden deshalb mit Tributylzinnhydrid/AIBN (Toluol/90°C) reaktiv debromiert (Schema 39). Man erhielt dabei die Produkte **225** und **226** in je 95% Ausbeute.

Schema 39



Die Verknüpfungsart des N-Acetylneuraminyl-Restes mit der Lactose **137** im Glycosid **225**¹² lässt sich aus dem Vergleich der ¹H-NMR-Spektren von **225** und der durch Nachacetylierung¹³ gewonnenen Verbindung **227** bestimmen. Das Signal von H-C(4') im **225** wird bei 3.91 ppm gefunden und weist die Kopplungen $J_{3',4'} = 3.0$ und $J_{4',5'} = 0.5$ Hz auf. Im Acetat **227** wird das gleiche Signal für H-C(4') bei 5.36 ppm gefunden. Die Änderung der chem. Verschiebung von H-C(3') ist wesentlich kleiner (**225**: 3.81 ppm → **227**: 4.58 ppm). Die deutliche Verschiebung des Signals von H-C(4') zum tieferem Feld beweist die (2"→3')-Verknüpfung in **227**.

Die reduktive Debromierung von **224** ergab unter den Reaktionsbedingungen (Bu_3SnH , AIBN, Toluol, 90°C) das Lacton **226** (95%). Das Trisaccharid **226** stellt das Produkt einer intramolekularen Umesterung der Carboxymethyl-Gruppe des N-Acetylneuraminyl-Restes mit der reaktiven C(3')-OH-Gruppe des Lactoserestes dar. Unter den Debromierungsbedingungen erfolgt die Umesterung rasch und quantitativ; das offenkettige Produkt konnte nicht gefasst werden. Eine vergleichbare Umesterung mit der wesentlich weniger reaktiven C(4')-OH-Gruppe im Trisaccharid **225** wurde unter analogen Bedingungen nicht beobachtet. Das Vorliegen eines δ -Lactons im Trisaccharid **226** kann anhand der IR-, ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren bewiesen werden: Im IR-Spektrum wird eine starke Bande bei 1740 cm^{-1} mit einer mittelstarken Schulter bei 1750 cm^{-1} gefunden. Während die $\nu(\text{C}=\text{O})$ -Streckschwingung bei 1740 cm^{-1} eindeutig den vier O-Acetyl-Gruppen des N-Acetylneuraminyl-Restes zugeordnet werden muss, wird die Absorption bei 1750 cm^{-1} von der Carbonyl-Gruppe des δ -Lactons im **226** verursacht. δ -Lactone weisen charakteristische Carbonyl-Banden bei 1750 cm^{-1} auf [145]. Die Struktur von **226** lässt sich aus dem vollständig zugeordneten ¹H- und ¹³C-NMR-Spektrum bestimmen (s. Exp. Teil). Die Ausbildung eines δ -Lactons ist insbesondere daran zu erkennen, dass das im ¹H-NMR bei ~3.6-3.8 ppm und im ¹³C-NMR bei ~53 ppm erwartete charakteristische Signal der Carboxymethyl-Gruppe fehlt. Ferner wird im ¹H-NMR von **226** das Signal von H-C(3') (4.45 ppm, $J_{2',3'} = 9.4$, $J_{3',4'} = 3.7$ Hz) und H-C(4') (4.72 ppm, $J_{3',4'} = 3.7$, $J_{4',5'} = 1.5$ Hz) gegenüber dem entsprechenden Signal des Bromids **224** um 0.7-0.8 ppm zum tieferem Feld verschoben, was zusätzlich auf eine intramolekulare Acylierung der C(3')-OH-Gruppe hinweist.

¹² Gleichzeitig und unabhängig von uns haben Paulsen und von Deesen [70] das Trisaccharid **225** durch Glycosidierung von **40** mit **137** in 19% Ausbeute erhalten.

¹³ Es ist bemerkenswert, dass die Nachacetylierung von **225** in Gegenwart von Ac_2O (1.4 Äquiv.) und Pyridin (1.7 Äquiv.) erst bei 80°C erfolgt und 24 h dauert. Dies weist deutlich auf die geringe Reaktivität von C(4')-OH hin (s. auch [192]).

Tabelle 6 $^1\text{H-NMR}$ -Daten des *N*-Acetylneuraminyl-Restes

Verbindung	chem. Verschiebung δ [ppm]										NH
	H-3e	H-3a	H-4	H-5	H-6	H-7	H-8	H-9	H-9'	CO ₂ Me	
45	5.05	-	5.77	4.48	4.48	5.43	5.26	4.44	4.14	3.91	5.39
212	4.27	-	4.92	4.21	3.96	5.52	5.35	4.46	4.18	3.82	-
219	4.73	-	5.05	4.52	3.87	5.09	5.19	5.25	4.03	3.54	3.51
220	2.71	1.80	4.98	3.97	3.90	5.16	5.16	4.99	4.00	3.55	3.83
223	4.68	-	5.59	4.34	4.77	5.36	5.27	5.10	4.13	3.61	5.58
224	4.47	-	5.26	4.56	4.36	5.04	5.47	5.20	3.98	3.73	4.28
225	2.55	2.01	5.20	4.09	4.34	5.27	5.20	4.80	4.01	3.64	4.82
226	2.08	2.51	5.06	4.12	4.07	5.26	5.21	4.92	3.81	-	4.92
227	2.58	1.85	5.07	4.09	4.67	5.41	5.29	5.06	3.93	3.46	5.77
Verbindung	Kopplungskonstanten J [Hz]										J _{5,NH}
	J _{3e,3a}	J _{3e,4}	J _{3a,4}	J _{4,5}	J _{5,6}	J _{6,7}	J _{7,8}	J _{8,9}	J _{8,9'}	J _{9,9'}	
45	-	3.5	-	10.2	10.1	1.7	7.3	2.7	5.5	12.6	8.8
212	-	9.6	-	9.6	11.0	2.3	6.0	2.5	6.0	12.6	-
219	-	3.5	-	10.8	10.6	2.2	2.2	2.2	9.0	12.3	10.6
220	13.7	4.8	11.6	10.8	10.0	2.0	2.1	1.9	8.5	12.3	10.0
223	-	3.4	-	10.5	10.5	2.1	2.1	2.1	8.8	12.4	9.4
224	-	3.4	-	10.6	10.5	2.2	3.5	2.5	8.8	12.5	10.4
225	13.6	4.5	10.1	10.6	10.6	2.8	3.9	1.0	7.9	12.4	10.6
226	13.0	5.0	11.9	9.4	10.0	2.2	2.2	2.2	9.4	12.4	10.0
227	13.4	4.7	10.3	10.5	10.5	2.5	2.5	2.5	9.1	12.2	10.2

EXPERIMENTELLER TEIL

1. Allgemeines

Dünnschichtchromatographie (DC) wurde auf Fertigplatten der Fa. Merck (Kieselgel 60 F₂₅₄, Glassplatten) durchgeführt. Die Platten wurden entwickelt durch Besprühen mit einem 1:1 Gemisch einer Lösung aus 10 g J₂ und 100 g KJ in 1 l Wasser und 20 proz. Schwefelsäure und anschliessendes Erhitzen auf ca. 200°C.

Säulenchromatographie (Flash-Chromatographie, FC) wurde nach W.C. Still et al. [144] auf Kieselgel 60 (Korngrösse: 40-63 µm, 230-400 mesh) der Fa. Merck ausgeführt.

Hochdruckflüssigchromatographie (HPLC) wurde im analytischen, halbpräparativen und präparativen Massstab an dem Gerät DuPont 8800 durchgeführt. Die Detektion erfolgte mit einem UV-Detektor bei 254, bzw. 210 nm, oder mit einem Refraktometer der Fa. Knauer.

Schmelzpunkte (Smp.) wurden am Büchi 510 Apparat bestimmt, sind unkorrigiert und auf ganze °C gerundet.

Optische Drehwerte ($[\alpha]_D^{25}$) wurden gemessen am Perkin-Elmer-241 Polarimeter bei 25°C in einer 1 dm Mikrozelle bei 365, 436, 564 und 589 nm. Die spez. Drehung bei 589 nm wurde mit einer Regressionskurve über alle Messwerte bestimmt, ausser wenn ORD-Effekte beobachtet wurden. In diesen Fällen wurde nur der Messwert bei 589 nm berücksichtigt.

Ultraviolettpektren wurden am Perkin-Elmer-555 Spektrometer in 1 cm-Küvetten aufgenommen. Als Lösungsmittel wurde spektroskopisch reines Äthanol (Uvasol, Fa. Merck) verwendet.

CD-Spektren wurden am Roussel-Jouan 185 Dichrograph bei Raumtemperatur

im spektroskopisch reinen Äthanol (Uvasol, Fa. Merck) gemessen.

Infrarotspektren wurden am Perkin-Elmer-298 Spektrometer aufgenommen. Die Substanzen wurden als 3% CHCl_3 -Lösungen oder als KBr-Presslinge vermessen. Die Lage der Banden wird in cm^{-1} angegeben, wobei starke (s), mittelstarke (m), schwache (w) und breite (br.) Signale unterschieden werden.

Kernresonanzspektren wurden aufgenommen am Varian-XL-200 (^1H (200 MHz), ^{13}C (50MHz)) und Bruker-AM-400 (^1H (400 MHz), ^{13}C (100 MHz)) Spektrometer. Die chemischen Verschiebungen sind in ppm relativ zum Standard (Tetramethylsilan in CDCl_3 , CH_3CN in D_2O), die Kopplungskonstanten in Hz nach 1. Ordnung angegeben. Die Signalmultiplizitäten wurden wie folgt abgekürzt: s (Singlett), d (Doublett), t (Triplett), q (Quartett), m (Multiplett) und br (breites Signal). Die ^{13}C -Spektren sind breitbandentkoppelt und die Zuordnung wurde mit DEPT-Spektren und durch selektives Einstrahlen auf eindeutig zugeordnete Protonen und Beobachten des vollständig gekoppelten ^{13}C -Spektrums getroffen.

Massenspektren (MS) wurden gemessen am Varian-112S (EI: 70 eV; CI: Isobutan), oder am Varian-711 Spektrometer (FAB, Beschuss mit Xe-Atomen von 8-keV Energie, Glycerinmatrix).

Lösungsmittel und Reagenzien: Die Lösungsmittel wurden vor Gebrauch alle destilliert und wenn nötig nach üblichen Methoden getrocknet. Kommerziell erhältliche Reagenzien wurden von den Firmen Fluka AG, Merck AG, Aldrich Company und Sigma in der besten Qualität bezogen.

Abkürzungen:

abs.	absolut	TBDMSCI	t-Butyldimethylsilylchlorid
AcOEt	Essigsäureäthylester	THF	Tetrahydrofuran
AIBN	α,α' -Azo-isobutyronitril	TsOH	p-Toluolsulfonsäure
Et_2O	Diäthyläther		
EtOH	Äthanol		
i.V.	im Vakuum		
MeOH	Methanol		
RT	Raumtemperatur		
RV	Rotationsverdampfer		

2. Herstellung der Edukte - Funktionalisierung von Neu5Ac-Glycalen

Kalium Oxalessigsäure-di-tert.-butylat (9)

Die Vorschrift von Heidelberger und Hurlbert [193] wurde wie folgt modifiziert: Frisch sublimiertes Kalium t-Butanolat (66.6 g, 0.59 mol) wurde in abs. t-Butanol (680 ml) bei 60°C unter Argon gelöst. Dann wurde unter intensivem Rühren Oxalsäure-di-tert.-butylester [194] (120 g, 0.59 mol) gefolgt von Essigsäure-tert.-butylester (69 g, 0.59 mol) zugegeben. Nach ca. 3 Min. verfestigte sich der Kolbeninhalt. Nach weiteren 5 Min. bei 60°C wurde auf RT abgekühlt, der Festkörper wurde mit Et₂O (1'100 ml) aufgeschlämmt und die Suspension wurde 24 h bei RT gerührt. Das Produkt wurde dann abgenutscht und getrocknet. Ausbeute: 131.4 g (78%).

2-Acetamido-2-desoxy-4,6-O-isopropyliden-D-glucopyranose (122)

Die Vorschrift von Hasegawa und Fletcher [130] wurde wie folgt modifiziert: Eine Lösung von 2-Acetamido-2-desoxy-D-glucopyranose (150 g, 0.68 mol) in abs. DMF (2'250 ml) wurde versetzt mit 2,2-Dimethoxypropan (298 ml, 2.44 mol) und TsOH·H₂O (2.2 g, 11.5 mmol). Das Gemisch wurde anschl. 24 h bei RT weitergerührt. Die Säure wurde dann mit IRA-68 (50 g) neutralisiert und das DMF wurde i.V. bei 60°C eingedampft. Der Rückstand wurde in abs. EtOH (100 ml) suspendiert und das Produkt mit Et₂O (800 ml) gefällt. Filtration und Trocknen i.V. ergab 133.3 g (75%) **122**. Zur Analyse wurde eine kleine Menge umkristallisiert (EtOH).

Smp. 189-190°C (eingeführt bei 180°C, 2°C/Min., zers.)

R_f (CHCl₃/MeOH 5:1): 0.32

$[\alpha]_D^{25} = +57^{\circ}$ (c=1.0, MeOH)

IR (KBr): 3460s, 3310s, 2995m, 2960w, 2890w, 1660s, 1635s, 1555s, 1440w, 1375s, 1315m, 1270m, 1240w, 1200s, 1175m, 1165m, 1120s, 1080s, 1060s, 1035s, 1000m, 960m, 945m, 905w, 860s, 755m, 630m.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CD_3OD): 5.06 (d, $J=3.6$, $\text{H-C}(1,\alpha)$); 4.65 (d, $J=8.0$, $\text{H-C}(1,\beta)$, $\alpha : \beta = 4 : 1$); 3.93 (dd, $J=10.1$, 3.6 , $\text{H-C}(2,\alpha)$); 3.84 - 3.53 (m, $\text{H-C}(3)$, $\text{C}(4)$, $\text{C}(6)$, $\text{C}(6')$, $\alpha + \beta$); 1.98 (s, 3H, NHAc); 1.52, 1.38 (2s, CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD): α -Anomer: 173.7 (s, NHAc); 100.9 (s, isopropyliden); 93.3 (d, $\text{C}(1)$); 76.5, 70.0 (2d, $\text{C}(4)$, $\text{C}(5)$); 64.5 (d, $\text{C}(3)$); 63.6 (t, $\text{C}(6)$); 56.4 (d, $\text{C}(2)$); 29.5 (q, NHAc); 22.6, 19.4 (2q, CH_3). β -Anomer: 174.1 (s, NHAc); 100.9 (s, isopropyliden); 97.7 (d, $\text{C}(1)$); 75.6, 73.1 (2d, $\text{C}(4)$, $\text{C}(5)$); 68.7 (d, $\text{C}(3)$); 63.2 (t, $\text{C}(6)$); 59.7 (d, $\text{C}(2)$); 29.4 (q, NHAc); 22.9, 19.3 (2q, CH_3).

El-MS: 246 (3, M^+-15), 218 (1, M^+-43), 114 (22), 101 (16), 72 (25), 59 (84), 43 (100).

$\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{NO}_6$ (261.28) Ber. C 50.57, H 7.33, N 5.36

Gef. C 50.20, H 7.02, N 5.19

5-Acetamido-3,5-didesoxy-D-glycero-D-galacto-2-nonulosonsäure (2)

Die Vorschrift von Kuhn und Baschang [37] wurde wie folgt modifiziert: 2-Acetamido-2-desoxy-4,6-O-isopropyliden-D-glucopyranose **122** (50.7 g, 193.9 mmol) und Kalium Oxalessigsäure-di-tert.-butylat **9** (60.0 g, 212.5 mmol) wurden in einem 1:1 MeOH/Dioxan-Gemisch (1'800 ml) gelöst und die Lösung wurde 3 Wochen bei RT gerührt¹⁴. Der Ansatz wurde anschl. über Celite filtriert, der pH-Wert mit IRA-120 (H^+) auf 6 gestellt und das Lösungsmittel i.V. eingedampft. Der Rückstand wurde in MeOH (1'500 ml) aufgenommen und die Lösung wurde auf eine IRA-120-Säule (H^+ , 16-45 mesh, 90x400 mm) aufgetragen. Das Produkt wurde dann mit MeOH (4l) eluiert. Der Effluent wurde i.V. eingedampft, der Rückstand in H_2O (600 ml, 2l-Kolben) suspendiert und die Suspension unter starkem Rühren auf 130°C erhitzt. Nach ca. 30-40 Min. wurde im Eisbad abgekühlt, über Celite filtriert und der pH-Wert des Filtrats mit 2N NaOH auf 9-10 gestellt. Die basische Lösung wurde dann bei +4°C 24 h stehen gelassen¹⁵ und anschl. auf eine Dowex-Säule aufgetragen (Dowex 1x8, 200-400 mesh, Formiat-Form, Säule: Pharmacia K50/100, Vol:50x700 mm, Flussrate: 2 ml/Min.). Das Produkt **2** wurde mit einem HCO_2H -Gradienten eluiert (FPLC-System Pharmacia, Gradient: 0.3→0.7M HCO_2H , linear: 5'000 ml, dann bei 0.7M HCO_2H isokratisch: 2'000 ml, Flussrate: 3.3 ml/Min.). Die

¹⁴ Die Reaktion wurde mit DC ($\text{AcOEt}/\text{HOAc}/\text{H}_2\text{O}$ 9:2:2) verfolgt.

¹⁵ Wenn nötig wurde der pH durch Zugabe von 2N NaOH auf 9-10 korrigiert

Neu5Ac **2** positive Fraktionen (DC: i-PrOH/H₂O 7:3) wurden vereinigt und mit gleichem Volumen H₂O verdünnt. Die HCO₂H wurde anschl. durch wiederholte Koevaporation mit H₂O (7x, bei 40°C) entfernt. Dann wurde die Lösung über eine Darco-60-Aktivkohle-Säule¹⁶ filtriert und der Effluent wurde lyophilisiert. Ausbeute: 23.5 g (39%). Das Produkt Neu5Ac **2** konnte aus H₂O/HOAc (1:10) umkristallisiert werden.

$$[\alpha]_D^{25} = -33^\circ \text{ (c=1.04, H}_2\text{O; Literatur [37]: } -32^\circ \text{)}$$

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur überein [195, 196].

Methyl-5-acetamido-2,4,7,8,9-penta-O-acetyl-3,5-dideoxy-β-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosonat (125).

Die Vorschrift von Myers et al. [197] wurde folgendermassen abgeändert: Kristalline Neu5Ac **2** (5.0 g, 16.17 mmol) wurde mit Ac₂O (75.9 ml) und Pyridin (64.6 ml) bei 0°C während 48 h acetyliert. Dann wurde das überschüssige Ac₂O bei 0°C mit MeOH (80 ml) solvolysiert und der Ansatz wurde i.V. eingedampft. Der Rückstand wurde mit Toluol/MeOH (10:1) 6x koevaporiert und dann mit AcOEt aufgeschäumt. Der Schaum wurde anschl. in CH₂Cl₂ (150 ml) aufgenommen und bei 0°C wurde eine Lösung von Diazomethan in Et₂O (ca. 50-70 ml) [198] innerhalb von 20 Min. zugegeben. Nach weiteren 30 Min. wurde das überschüssige Diazomethan mit N₂ ausgeblasen und der Ansatz wurde eingedampft. Nach Reinigung mit FC (AcOEt) erhielt man 7.85 g (91%) **125** als einen weissen Schaum.

$$R_f \text{ (AcOEt): } 0.20$$

$$[\alpha]_D^{25} = -31.6^\circ \text{ (c=1.17, CHCl}_3\text{)}$$

IR (CHCl₃): 3430m, 3000m, 2960m, 1745s br., 1690s, 1510s, 1440s, 1370s, 1315m, 1230s br., 1170s, 1125s, 1115s, 1040s, 1010s, 945m, 850w, 770s br., 720s br., 665s.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 5.45 (d, J=9.5, NH); 5.38 (dd, J=5.1, 1.9, H-C(7)); 5.27 (ddd, J=11.3, 10.5, 5.0, H-C(4)); 5.08 (ddd, J=5.9, 5.1, 2.6, H-C(8)); 4.50 (dd, J=12.4, 2.6, H-C(9)); 4.13 (m, 3H, H-C(5),C(6),C(9)); 3.80 (s, 3H, CO₂CH₃); 2.55 (dd, J=13.5, 5.0, H-C(3, eq.)); 2.15 (s, 6H, 2OAc); 2.06 (s, 3H, OAc); 2.04 (s, 6H, 2OAc);

¹⁶ Die Säule wurde zuerst mit verd. Ameisensäure, dann mit Wasser neutral gewaschen.

1.89 (s, 3H, NHAc).

^{13}C -NMR (50 MHz, CDCl_3): 170.77, 170.44, 170.33, 170.21, 170.12, 168.12 (6s, 5xOAc + NHAc); 166.23 (s, CO_2CH_3); 97.42 (s, C(2)); 72.69 (d, C(6)); 71.44 (d), 68.33 (d), 67.81 (d, C(4), C(7), C(8)); 62.07 (t, C(9)); 53.00 (q, CO_2CH_3); 49.09 (d, C(5)); 35.84 (t, C(3)); 22.89 (q, NHAc); 20.70, 20.66, 20.58 (5q, 5xOAc).

CI-MS: 474 ($[\text{M}+1]^+$ -HOAc), 414 ($[\text{M}+1]^+$ -2HOAc).

$\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{NO}_{14}$ (533.49) Ber. C 49.53, H 5.86, N 2.62
Gef. C 49.76, H 6.05, N 2.54

Methyl-7,8,9-tri-O-acetyl-2,6-anhydro-3,4,5-tridesoxy-4,5-dihydro-2'-methyloxazolo-[5,4-d]-D-glycero-D-talo-non-2-enoat (116) [123, 129].

Trifluormethansulfonsäure-trimethylsilylester (TMSOTf, 4.08 ml, 22.5 mmol) wurde unter N_2 innert 2-3 Min. zu einer Lösung von **125** (6.00 g, 11.25 mmol) in abs. CH_3NO_2 (108 ml) zugegeben. Nach 4 h bei RT wurde zusätzliches TMSOTf (1.02 ml, 5.6 mmol) zugegeben und das Gemisch wurde weitere 4 h gerührt. Die Reaktion wurde dann durch Zugabe von K_2CO_3 (30 g) gestoppt. Nach 15 Min. wurde über Celite filtriert und das Filtrat i.V. eingeengt. Der Rückstand wurde in CH_2Cl_2 (100 ml) aufgenommen und mit H_2O (3x70 ml) gewaschen. Nach dem Trocknen der org. Phase (MgSO_4) und Einengen i.V. wurde das Produkt mit FC gereinigt (Gradient: Toluol/AcOEt 1:1→1:4) und aus AcOEt/Hexan kristallisiert. Ausbeute 3.49 g (75%).

Smp. 90-92°C	UV (EtOH): 230 (5'780).
R_f (AcOEt): 0.45	CD (EtOH): 202 ($\Delta\epsilon=-17.9$), 219 ($\Delta\epsilon=+12.4$),
$[\alpha]_D^{25} = -8.2^\circ$ (c=1.0, CHCl_3)	246 ($\Delta\epsilon=+6.4$)

IR (KBr): 2980w, 2960w, 2880w, 1750s, 1665m, 1445m, 1375m, 1320w, 1300m, 1280m, 1245s, 1225s, 1125w, 1105m, 1085m, 1045m, 1015w, 990w, 960w, 945m, 930w, 880w, 845w, 780w, 760w.

^1H -NMR (200 MHz, CDCl_3): 6.39 (d, J=4.0, H-C(3)); 5.64 (dd, J=6.2, 2.5, H-C(7)); 5.45 (td, J=6.2, 2.6, H-C(8)); 4.83 (dd, J=8.6, 4.0, H-C(4)); 4.61 (dd, J=12.4, 2.6, H-

C(9)); 4.23 (dd, $J=12.5, 6.2$, H-C(9')); 3.96 (ddd, $J=10.1, 8.6, 0.9$, H-C(5)); 3.82 (s, 3H, CO₂CH₃); 3.44 (dd, $J=10.1, 2.5$, H-C(6)); 2.16, 2.07, 2.06 (3s, 3H, OAc); 2.02 (d, $J=0.9$, CH₃).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 170.39, 169.60, 169.40 (3s, 3OAc); 166.93 (s, C=N); 161.75 (s, C(1)); 147.13 (s, C(2)); 107.44 (d, C(3)); 76.78 (d, C(6)); 72.18 (d, C(4)); 70.33 (d, C(8)); 69.08 (d, C(7)); 62.20 (d, C(5)); 61.95 (t, C(9)); 52.32 (q, CO₂CH₃); 20.65, 20.58, 20.44 (3q, 3OAc); 13.95 (q, CH₃).

CI-MS: 414 ([M+1]⁺), 354 ([M+1]⁺-HOAc).

C₁₈H₂₃NO₁₀ (413.38) Ber. C 52.30, H 5.61, N 3.38

Gef. C 52.32, H 5.75, N 3.50

Methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-2,6-anhydro-3,5-didesoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-enoat (126) [113, 133, 143]

Trifluormethansäure-trimethylsilylester (TMSOTf, 4.86 ml, 26.8 mmol) wurde unter N₂ innert 2-3 Min. zu einer kalten Lösung (+4°C) von **125** (7.15 g, 13.4 mmol) in abs. CH₃NO₂ (134 ml) zugegeben. Nach 15 h bei +4°C wurde die Reaktion durch Zugabe von K₂CO₃ (50 g) gestoppt. Das Gemisch wurde durch Celite filtriert und das Filtrat wurde i.V. eingeeengt. Der Rückstand wurde in CH₂Cl₂ (100 ml) aufgenommen und mit H₂O (3x50 ml) gewaschen. Trocknen (MgSO₄), Eindampfen i.V. und FC (Gradient: Toluol/AcOEt 1:1→1:4) ergab **126** (4.37 g, 69%) und **116** (880 mg, 15%).

R_f (AcOEt): 0.32

[α]_D²⁵ = +68.8° (c=1.05, CHCl₃)

UV (EtOH): 237 (7'024)

CD (EtOH): 240 (Δε = +7.6)

IR (CHCl₃): 3430m, 3360w, 3030m, 3000m, 2960m, 1740s br., 1685s, 1500m, 1440m, 1370s, 1305m, 1250-1200s br., 1140m, 1105m, 1045s, 1025s, 985m, 950m.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 6.01 (d, $J=3.2$, H-C(3)); 5.60 (d, $J=8.8$, NH); 5.49 (m, 2H, H-C(7), H-C(4)); 5.36 (ddd, $J=7.0, 4.7, 3.3$, H-C(8)); 4.60 (dd, $J=12.3, 3.3$, H-C(9)); 4.39 (m, 2H, H-C(5), H-C(6)); 4.20 (dd, $J=12.3, 7.0$, H-C(9')); 3.81 (s, 3H,

CO₂CH₃); 2.13, 2.08, 2.07, 2.06 (4s, 3H, 4xOAc); 1.94 (s, 3H, NHAc).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 170.72, 170.51, 170.13, 170.04, (4s, 4xOAc, NHAc); 161.51 (s, C(1)); 144.94 (s, C(2)); 107.91 (d, C(3)); 76.54 (d, C(6)); 70.81 (d, C(8)); 68.04 (d, C(4)); 67.53 (d, C(7)); 61.88 (t, C(9)); 52.44 (q, CO₂CH₃); 46.26 (d, C(5)); 22.94 (q, NHAc); 20.73, 20.59 (4q, 4xOAc).

CI-MS: 474 (1, [M+1]⁺), 414 (100, [M+1]⁺-HOAc), 353 (7, [M+1]⁺-2HOAc); 294 (10, [M+1]⁺-3HOAc).

C₂₀H₂₇O₁₂N (473.44) Ber. C 50.74, H 5.75, N 2.96
Gef. C 50.21, H 5.90, N 2.85

Methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3-brom-3,5-didesoxy-β-D-erythro-L-manno-2-nonulopyranosonat (130) und Methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3-brom-3,5-didesoxy-β-D-erythro-L-gluco-2-nonulopyranosonat (129)

Zu einer Lösung von **126** (2.45 g, 5.17 mmol) in Dioxan/H₂O (2:1, 26 ml) wurde N-Bromsuccinimid (NBS, 1.10 g, 6.20 mmol) zugegeben und das Gemisch wurde 3 h bei RT gerührt. Dann wurde überschüssiges NBS mit 3,4-Dihydro-2H-pyran (500 µl) zerstört, das Gemisch wurde i.V. eingeeengt und H₂O wurde durch Koevaporation mit Toluol (4x30 ml) entfernt. Die Produkte wurden anschl. mit FC (AcOEt / Hexan 3:1) und präp. HPLC (ZorbaxSil 250x21.2 mm, AcOEt/Hexan 3:1) getrennt. Während **130** (1.59 g, 54%) aus AcOEt/Hexan (3:1) kristallisiert werden konnte, wurde **129** (1.13 g, 38%) als Schaum erhalten.

Daten von 130:

Smp. 170-171°C

R_f (AcOEt): 0.37

[α]_D²⁵ = +65.1° (c=1.05, CHCl₃)

IR (CHCl₃): 3430m, 3360m, 3030m, 3000m, 2960w, 1740s, 1690s, 1605w, 1510m, 1440m, 1370s, 1300s, 1250-1200s br., 1130s, 1060s, 1040s, 940m.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 6.35 (d, $J=9.1$, NH); 5.42 (dd, $J=10.0$, 3.6, H-C(4)); 5.38 (dd, $J=2.7$, 1.7, H-C(7)); 5.26 (ddd, $J=8.7$, 2.4, 2.7, H-C(8)); 4.99 (dd, $J=12.4$, 2.4, H-C(9)); 4.63 (d, $J=3.6$, H-C(3)); 4.42 (m, 2H, H-C(5), H-C(6)); 4.16 (dd, $J=12.4$, 8.7, H-C(9')); 3.81 (s, 3H, CO_2CH_3); 2.60 (br. s, 1H, OH); 2.19, 2.09, 2.07, 2.04, 1.93 (5s, 3H, 4xOAc + NHAc).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): 172.15, 171.26, 170.57, 170.49, 170.39 (5s, 4xOAc + NHAc); 167.33 (s, C(1)); 96.11 (s, C(2)); 73.01 (d, C(8)); 71.65 (d, C(6)); 68.80 (d, C(7)); 68.51 (d, C(4)); 62.78 (t, C(9)); 52.89 (q, CO_2CH_3); 51.26 (d, C(3)); 45.55 (d, C(5)); 22.96 (q, NHAc); 20.96, 20.76, 20.66, 20.61 (4q, 4xOAc).

CI-MS: 490 (100, $[\text{M}+1]^+ \text{-HBr}$)

$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{BrNO}_{13}$ (570.35) Ber. C 42.12, H 4.95, Br 14.01, N 2.46

Gef. C 42.08, H 4.87, Br 14.09, N 2.39

Daten von 129:

R_f (AcOEt): 0.47

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -49.7^\circ$ ($c=0.98$, CHCl_3)

IR (CHCl_3): 3500w, 3430w, 3030w, 3000w, 2960w, 1740s, 1690m, 1605w, 1510m, 1435m, 1370s, 1250-1200s br., 1160m, 1035s, 940w.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 6.20 (d, $J=9.7$, NH); 5.36 (dd, $J=5.6$, 2.0, H-C(7)); 5.33 (dd, $J=10.5$, 9.9, H-C(4)); 5.19 (ddd, $J=7.3$, 5.6, 2.4, H-C(8)); 5.19 (s, 1H, OH); 4.44 (dd, $J=12.3$, 2.4, H-C(9)); 4.36 (d, $J=10.5$, H-C(3)); 4.35 (m, 2H, H-C(5), H-C(6)); 3.98 (dd, $J=12.4$, 7.4, H-C(9')); 3.94 (s, 3H, CO_2CH_3); 2.15, 2.11, 2.09, 2.03, 1.89 (5s, 3H, 4xOAc + NHAc).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): 170.88, 170.82, 170.72, 170.28, 170.05 (5s, 4xOAc + NHAc); 167.39 (s, C(1)); 95.47 (s, C(2)); 72.78 (d, C(4)); 71.07 (d, C(8)); 70.88 (d, C(6)); 67.46 (d, C(7)); 62.42 (t, C(9)); 54.13 (q, CO_2CH_3); 49.94 (d, C(3)); 48.92 (d, C(5)); 22.85 (q, NHAc); 20.88, 20.71, 20.65, 20.55, (4q, 4xOAc).

CI-MS: 570 + 572 (24, $[\text{M}+1]^+$), 490 (71, $[\text{M}+1]^+ \text{-HBr}$), 430 (100, $[\text{M}+1]^+ \text{-HBr-HOAc}$).

$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{BrNO}_{13}$ (570.35) Ber. C 42.12, H 4.95, Br 14.01, N 2.46

Gef. C 42.03, H 4.99, Br 14.12, N 2.41

Methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-β-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosonat (133) [133, 147]

Unter Ar und bei 90°C wurde Bu₃SnH (140 µl, 528 µmol), gefolgt von AIBN (6 mg, 35 µmol), zu einer entgasten Lösung von **130** (200 mg, 350 µmol) in abs. Toluol (1.6 ml) zugegeben. Nach 5 Min. wurde der Ansatz abgekühlt und i.V. eingeeengt. Der Rückstand wurde mit FC (Gradient: AcOEt/Hexan 1:2→2:1) gereinigt. Kristallisation aus AcOEt/Et₂O gab reines **133** (133 mg, 77%).

Das Bromid **129** (200 mg, 350 mmol) wurde auf gleiche Weise in **133** übergeführt (120 mg, 70 %).

Smp. 175-176°C (Lit.[147]: 174-175°C)

R_f (AcOEt): 0.29

$[\alpha]_D^{25} = -3.5^\circ$ (c=1.05, CHCl₃)

IR (CHCl₃): 3500m, 3430m, 3360m, 3030m, 3000m, 2960m, 1740s br., 1685s, 1505s, 1440m, 1370s, 1250-1200s br., 1155s, 1125s, 1075s, 1035s, 985m, 945m, 870w.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 5.62 (d, J=9.7, NH); 5.35 (dd, J=5.7, 1.5, H-C(7)); 5.23 (m, 2H, H-C(8), H-C(4)); 4.48 (s, HO-C(2), austauschbar mit D₂O); 4.48 (dd, J=12.3, 2.5, H-C(9)); 4.17 (m, 2H, H-C(6), H-C(5)); 4.02 (dd, J=12.3, 7.4, H-C(9')); 3.86 (s, 3H, CO₂CH₃); 2.27 (t, J=12.8, H-C(3)ax); 2.18 (dd, J=12.8, 5.3, H-C(3)eq); 2.14, 2.10, 2.03, 2.02 (4s, 3H, 4xOAc); 1.90 (s, 3H, NHAc).

¹H-NMR (400 MHz, Aceton-d₆): 7.00 (d, J=10.0, NH); 5.93 (d, J=2.2, HO-C(2), austauschbar mit D₂O); 5.39 (dd, J=5.2, 2.5, H-C(7)); 5.20 (ddd, J=11.4, 10.4, 5.1, H-C(4)); 5.14 (ddd, J=7.6, 5.1, 2.7, H-C(8)); 4.43 (dd, J=12.2, 2.7, H-C(9)); 4.36 (dd, J=10.6, 2.5, H-C(6)); 4.10 (q, J=10.3, H-C(5)); 4.04 (dd, J=12.2, 7.5, H-C(9')); 3.76 (s, 3H, CO₂CH₃); 2.24 (dd, J=12.6, 5.1, H-C(3)eq); Signal von H-C(3)ax ist verdeckt vom Aceton-Multiplett; 2.04, 1.97, 1.95, 1.93, 1.77 (5s, 3H, 4xOAc, NHAc).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 171.46, 171.06, 170.71, 170.31, 170.12, 168.92 (6s, 4xOAc, NHAc, C(1)); 94.84 (s, C(2)); 72.08 (d, C(8)); 71.33 (d, C(6)); 69.11 (d, C(4)); 68.34 (d, C(7)); 62.49 (t, C(9)); 53.19 (d, CO₂CH₃); 49.03 (d, C(5)); 36.11 (d, C(3)); 22.96 (q, NHAc); 20.95, 20.77, 20.68 (4q, 4xOAc).

CI-MS: 492 (25, $[M+1]^+$), 474 (22, $[M+1]^+ - H_2O$), 432 (33, $[M+1]^+ - HOAc$), 414 (100, $[M+1]^+ - H_2O - HOAc$).

$C_{20}H_{29}NO_{13}$ (491.45) Ber. C 48.88, H 5.95, N 2.85
Gef. C 49.10, H 5.74, N 2.76

3. Synthese der N-Acetyl-4-epineuraminsäure

Methyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-2,6-anhydro-3,5-didesoxy-D-glycero-D-talo-non-2-enoat (138), Methyl-5-acetamido-4,8,9-tri-O-acetyl-2,6-anhydro-3,5-didesoxy-D-glycero-D-talo-non-2-enoat (139) und Methyl-5-acetamido-4,7,9-tri-O-acetyl-2,6-anhydro-3,5-didesoxy-D-glycero-D-talo-non-2-enoat (140)

Zu einer Lösung von **116** (1.00 g, 2.42 mmol) in THF (20 ml) wurde H₂O (1 ml) und Trifluoressigsäure (280 µl, 3.63 mmol) zugegeben und das Gemisch wurde 8 h bei RT gerührt. Dann wurde mit Et₃N (500 µl) neutralisiert und i.V. eingengt. Der Rückstand wurde mit FC (AcOEt) am Kieselgel gereinigt und die Mischfraktionen wurden mit präp. HPLC getrennt (ZorbaxSil 250x21.2mm, AcOEt). Man erhielt **138** (929 mg, 89%), **139** (74 mg, 7%) und **140** (41 mg, 4%) als weissen Schaum.

Daten von **138**:

R_f (AcOEt): 0.18
[α]_D²⁵ = -34.5° (c=0.71, CHCl₃)

UV (EtOH): 233 (4'110)
CD (EtOH): 247 (Δε = +4.42)

IR (CHCl₃): 3440m, 3015m, 2990s, 2940m, 2905m, 1730s br., 1685s, 1660m, 1500m, 1440m, 1375s, 1280-1200s br., 1135m, 1100m, 1050s, 975w, 940m, 850w.

¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 6.37 (d, J=9.5, NH); 6.16 (d, J=5.6, H-C(3)); 5.45 (dd, J=4.0, 1.9, H-C(7)); 5.29 (ddd, J=7.9, 4.0, 2.6, H-C(8)); 4.82 (dd, J=12.4, 2.6, H-C(9)); 4.33 (ddd, J=10.8, 9.5, 3.8, H-C(5)); 4.27 (dd, J=10.8, 1.9, H-C(6)); 4.22 (dd, J=5.6, 3.8, H-C(4)); 4.18 (dd, J=12.4, 7.9, H-C(9')); 3.80 (s, 3H, CO₂CH₃); 3.65 (br. s, OH, austauschbar mit D₂O); 2.11, 2.08, 2.07, 1.95 (4s, je 3H, 3OAc + NHAc).

¹³C-NMR (CDCl₃, 50 MHz): 170.67, 170.52, 170.19 (4s, 3OAc, NHAc); 162.21 (s, C(1)); 144.69 (s, C(2)); 109.73 (d, C(3)); 72.83 (d, C(6)); 71.91 (d, C(8)); 67.96 (d, C(7)); 62.17 (t, C(9)); 61.04 (d, C(4)); 52.34 (q, CO₂CH₃); 46.47 (d, C(5)); 22.93 (q, NHAc); 20.77, 20.61, 20.58 (3q, 3OAc).

CI-MS: 432 (28, [M+1]⁺), 414 (100, [M+1]⁺-H₂O), 372 (7, [M+1]⁺-HOAc).

$C_{18}H_{25}NO_{11}$ (431.40) Ber. C 50.11, H 5.84, N 3.25
Gef. C 50.01, H 5.96, N 3.10

Daten von 139:

R_f (AcOEt): 0.26 UV (EtOH): 235 (4'210)
 $[\alpha]_D^{25} = -156.8^\circ$ ($c=0.52$, $CHCl_3$) CD (EtOH): 233 ($\Delta\epsilon = -6.24$)

IR ($CHCl_3$): 3450m, 3380w, 3030w, 2990m, 2960m, 2930m, 2860w, 1740s br., 1660s, 1505m, 1440m, 1375s, 1280-1200s br., 1160m, 1110m, 1050s, 1025m, 975w, 945m, 850w.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 6.20 (d, $J=5.7$, H-C(3)); 5.91 (d, $J=8.5$, NH); 5.34 (ddd, $J=7.2$, 5.8, 2.5 (H-C(8))); 5.22 (dd, $J=5.7$, 4.2, H-C(4)); 4.77 (dd, $J=12.3$, 2.5, H-C(9)); 4.67 (d, $J=4.4$, HO-C(7), austauschbar mit D_2O); 4.41 (ddd, $J=11.3$, 8.6, 4.2, H-C(5)); 4.34 (dd, $J=12.3$, 5.8, H-C(9')); 3.95 (dd, $J=11.3$, 1.0, H-C(6)); 3.83 (ddd, $J=7.2$, 4.4, 1.0, H-C(7)); 3.79 (s, 3H, CO_2CH_3); 2.14, 2.12, 2.08, 2.06 (4s, je 3H, 3OAc + NHAc).

^{13}C -NMR (50 MHz, $CDCl_3$): 172.32, 170.63, 169.67, 169.57 (4s, 3xOAc + NHAc); 161.83 (s, C(1)); 147.01 (s, C(2)); 103.98 (d, C(3)); 73.62 (d, C(6)); 70.88 (d, C(8)); 67.09 (d, C(7)); 64.95 (d, C(4)); 62.71 (t, C(9)); 52.44 (q, CO_2CH_3); 45.59 (d, C(5)); 23.08 (q, NHAc); 20.92, 20.70 (3q, 3xOAc).

CI-MS: 432 (6, $[M+1]^+$), 414 (3, $[M+1]^+ - H_2O$), 372 (100, $[M+1]^+ - HOAc$).

$C_{18}H_{25}NO_{11}$ (431.40) Ber. C 50.11, H 5.84, N 3.25
Gef. C 50.25, H 5.79, N 3.30

Daten von 140:

R_f (AcOEt): 0.23 UV (EtOH): 235 (5'618)
 $[\alpha]_D^{25} = -186.6^\circ$ ($c=0.58$, $CHCl_3$) CD (EtOH): 232 ($\Delta\epsilon = -9.92$)

IR ($CHCl_3$): 3450m, 3380w, 3040w, 3000m, 2960m, 2930m, 2860w, 1740s br., 1685s, 1655s, 1500m, 1440m, 1370s, 1280-1200s br., 1115s, 1085s, 1040s, 1025s, 950m, 900w.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 6.23 (d, $J=5.6$, H-C(3)); 5.60 (d, $J=10.1$, NH); 5.19 (dd, $J=8.2$, 2.1, H-C(7)); 5.18 (dd, $J=5.6$, 4.0, H-C(4)); 4.62 (ddd, $J=11.2$, 10.1, 4.0, H-C(5)); 4.48 (dd, $J=11.2$, 2.1, H-C(6)); 4.31 (ddd, $J=8.2$, 6.3, 3.1, H-C(8)); 4.22 (dd, $J=11.9$, 3.1, H-C(9)); 4.11 (dd, $J=11.9$, 6.3, H-C(9')); 3.81 (s, 3H, CO_2CH_3); 3.17 (br. s, HO-C(8), austauschbar mit D_2O); 2.11, 2.10, 2.09, 1.96 (4s, je 3H, 3OAc + NHAc).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): 171.22, 170.30, 170.03, 169.79 (4s, 3xOAc + NHAc); 162.12 (s, C(1)); 146.07 (s, C(2)); 105.94 (d, C(3)); 72.79 (d, C(6)); 68.81 (d, C(7)); 67.26 (d, C(8)); 65.32 (t, C(9)); 64.70 (d, C(4)); 52.54 (q, CO_2CH_3); 44.17 (d, C(5)); 22.92 (q, NHAc); 20.91, 20.71 (3q, 3xOAc).

CI-MS: 432 (3, $[\text{M}+1]^+$), 414 (5, $[\text{M}+1]^+ - \text{H}_2\text{O}$), 372 (100, $[\text{M}+1]^+ - \text{HOAc}$).

$\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO}_{11}$ (431.40) Ber. C 50.11, H 5.84, N 3.25
Gef. C 50.32, H 5.91, N 3.19

Methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-2,6-anhydro-3,5-didesoxy-D-glycero-D-talo-non-2-enoat (141) [129]

Ein Gemisch aus **138**, **139** und **140** (total: 518 mg, 1.2 mmol, erhalten aus der Hydrolyse von **116**) wurde mit Ac_2O /Pyridin (1:2, 7.5 ml) bei $+4^\circ\text{C}$ 24 h acetyliert. Das Reaktionsgemisch wurde dann i.V. eingeengt und mit Toluol mehrmals eingedampft (7x30 ml). Filtration über Kieselgel (AcOEt) ergab **141** (565 mg, 99%) als weissen Schaum.

R_f (AcOEt): 0.24 UV (EtOH): 233 ($\lambda_{\text{max}}^{252}$)
 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -135.3^\circ$ ($c=1.16$, CHCl_3) CD (EtOH): 231 ($\Delta\epsilon = -7.39$), 255 ($\Delta\epsilon = +1.22$)

IR (CHCl_3): 3450m, 3330w, 3030w, 3000m, 2860w, 1740s, 1690s, 1660m, 1500m, 1440m, 1370s, 1300-1200s br., 1140m, 1115m, 1075m, 1045m, 1025m, 975m, 955m, 945m, 850w.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 6.22 (d, $J=5.6$, H-C(3)); 5.56 (d, $J=10.2$, NH); 5.50 (dd, $J=4.2$, 2.2, H-C(7)); 5.32 (ddd, $J=7.6$, 4.2, 2.6, H-C(8)); 5.15 (dd, $J=5.6$, 4.0, H-C(4)); 4.79 (dd, $J=12.4$, 2.6, H-C(9)); 4.59 (td, $J=10.7$, 4.0, H-C(5)); 4.29 (dd, $J=11.0$, 2.2,

H-C(6)); 4.19 (dd, $J=12.4$, 7.6, H-C(9')); 3.80 (s, 3H, CO_2CH_3); 2.11, 2.10, 2.09, 2.06 (4s, je 3H, 4xOAc); 1.94 (s, 3H, NHAc).

^{13}C -NMR (50 MHz, CDCl_3): 170.44, 170.36, 169.98, 169.67, 169.56 (5s, 4xOAc, NHAc); 161.56 (s, C(1)); 146.09 (s, C(2)); 105.77 (d, C(3)); 73.66 (d, C(6)); 71.72 (d, C(8)); 67.62 (d, C(7)); 64.67 (d, C(4)); 62.03 (t, C(9)); 52.43 (q, CO_2CH_3); 44.11 (d, C(5)); 22.96 (q, NHAc); 20.86, 20.76, 20.61, 20.54 (4q, 4xOAc).

CI-MS: 474 (17, $[\text{M}+1]^+$), 414 (100, $[\text{M}+1]^+ \text{-HOAc}$).

$\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{NO}_{12}$ (473.44) Ber. C 50.74, H 5.75, N 2.96
Gef. C 50.57, H 6.01, N 2.82

Methyl-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3-brom-3,5-didesoxy- α -D-erythro-L-allo-2-nonulopyranosid)onat (145) und Methyl-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3-brom-3,5-didesoxy- β -D-erythro-L-altro-2-nonulopyranosid)onat (146)

Zu einer Lösung von **141** (3.59 g, 7.58 mmol) in abs. MeOH (36 ml) wurde NBS (1.61 g, 9.04 mmol) zugegeben und der Ansatz wurde 2 h bei RT gerührt. Das überschüssige NBS wurde dann mit 3,4-Dihydro-2H-pyran (500 μl , 5.5 mmol) zerstört und das Gemisch wurde i.V. eingeeengt. Nach der Trennung mit FC (AcOEt/Hexan, Gradient: 2:1 $\rightarrow$ 6:1) und Kristallisation aus AcOEt/Hexan, erhielt man **145** (1.59 g, 36%) und **146** (2.75 g, 62%) als weisse Nadeln.

Daten von 145:

Smp. 192-193°C $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -61.8^\circ$ ($c=1.06$, CHCl_3)
 R_f (AcOEt): 0.44

IR (CHCl_3): 3440m, 3030m, 3000m, 2960m, 2850w, 1745s, 1690s, 1500m, 1435m, 1370s, 1320m, 1260-1200s br., 1170s, 1075s, 1045s, 1015m, 960m, 950m.

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): 5.56 (dd, $J=3.0$, 2.6, H-C(4)); 5.53 (d, $J=9.8$, NH); 5.44 (ddd, $J=8.1$, 5.6, 2.6, H-C(8)); 5.34 (dd, $J=8.1$, 2.3, H-C(7)); 4.92 (dd, $J=11.1$, 2.3, H-C(6)); 4.44 (ddd, $J=11.1$, 9.8, 3.0, H-C(5)); 4.33 (dd, $J=12.5$, 2.6, H-C(9)); 4.24 (d,

J=2.6, H-C(3)); 4.10 (dd, J=12.5, 5.6, H-C(9')); 3.82 (s, 3H, CO₂CH₃); 3.32 (s, 3H, OCH₃); 2.15, 2.11, 2.09, 2.04 (4s, je 3H, 4xOAc); 1.89 (s, 3H, NHAc).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 170.65, 170.22, 170.17, 169.88, 169.07, 167.15 (6s, 4xOAc, NHAc, C(1)); 98.15 (s, C(2)); 72.57 (d, C(4)); 70.92 (d, C(6)); 68.69 (d, C(8)); 67.35 (d, C(7)); 62.23 (t, C(9)); 52.26, 52.20 (2q, CO₂CH₃, OCH₃); 48.34 (d, C(3)); 46.94 (d, C(5)); 22.80 (q, NHAc); 21.02, 20.67, 20.58, 20.43 (4q, 4xOAc).

CI-MS: 584 + 586 (je 100%, [M+1]⁺)

C₂₁H₃₀BrNO₁₃ (584.38) Ber. C 43.16, H 5.17, Br 13.67, N 2.59

Gef. C 43.07, H 5.20, Br 13.62, N 2.51

Daten von 146:

Smp. 192-193°C

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -0.7^{\circ}$ (c=3.65, CHCl₃)

R_f (AcOEt): 0.33

IR (CHCl₃): 3440m, 3030m, 3000m, 2960m, 2840w, 1745s, 1690s, 1500s, 1440m, 1375s, 1300-1200s br., 1165s, 1130s, 1100s, 1065s, 1035s, 985m, 950m.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 5.53 (d, J=9.9, NH); 5.43 (t, J=2.6, H-C(7)); 5.23 (dt, J=8.5, 2.6, H-C(8)); 5.01 (dd, J=12.5, 2.4, H-C(9)); 4.95 (m, 2H, H-C(5), H-C(4)); 4.49 (d, J=2.2, H-C(3)); 4.27 (dd, J=10.8, 2.4, H-C(6)); 4.19 (dd, J=12.5, 8.5, H-C(9')); 3.81 (s, 3H, CO₂CH₃); 3.27 (s, 3H, OCH₃); 2.15, 2.12, 2.08, 2.02 (4s, je 3H, 4xOAc); 1.90 (s, 3H, NHAc).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 171.09, 170.52, 170.31, 169.92, 169.52 (5s, 4xOAc, NHAc); 165.61 (s, C(1)); 99.81 (s, C(2)); 70.69 (2d, C(4), C(7)); 68.82 (d, C(6)); 68.49 (d, C(8)); 62.41 (t, C(9)); 52.73, 52.56 (2q, CO₂CH₃, OCH₃); 44.09 (d, C(3)); 40.36 (d, C(5)); 22.99 (q, NHAc); 20.92, 20.85, 20.65 (4q, 4xOAc).

CI-MS: 584 + 586 (je 100%, [M+1]⁺)

C₂₁H₃₀BrNO₁₃ (584.38) Ber. C 43.16, H 5.17, Br 13.67, N 2.39

Gef. C 43.11, H 5.25, Br 13.65, N 2.41

Methyl-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-didesoxy- β -D-glycero-D-talo-2-nonulopyranosid)onat (148)

Unter Argon und bei 90°C wurde Bu₃SnH (3.05 ml, 11.5 mmol) gefolgt von AIBN (63 mg, 0.38 mmol) zu einer entgasten Lösung von **146** (4.50 g, 7.7 mmol) in abs. Toluol (44 ml) zugegeben. Nach 15 Min. wurde abgekühlt und i.V. eingeeengt. Der Rückstand wurde mit FC (AcOEt/Hexan, Gradient: 3:1→10:1) am Kieselgel fraktioniert. Nach Kristallisation aus AcOEt/Hexan erhielt man 3.74 g (96%) **148**.

Smp. 98-99°C

$[\alpha]_D^{25} = -53.6^\circ$ (c=1.38, CHCl₃)

R_f (AcOEt): 0.19

IR (CHCl₃): 3450m, 3030m, 3000m, 2960m, 2840w, 1740s, 1685s, 1500s, 1435m, 1375s, 1270-1200s br., 1170s, 1140s, 1105s, 1080s, 1040s, 955m, 945m.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 5.50 (d, J=10.0, NH); 5.44 (dd, J=2.5, 2.4, H-C(7)); 5.22 (dt, J=8.2, 2.4, H-C(8)); 4.92 (q, J=3.1, H-C(4)); 4.90 (dd, J=12.4, 2.4, H-C(9)); 4.36 (td, J=10.5, 3.1, H-C(5)); 4.27 (dd, J=10.5, 2.5, H-C(6)); 4.16 (dd, J=12.4, 8.2, H-C(9')); 3.78 (s, 3H, CO₂CH₃); 3.24 (s, 3H, OCH₃); 2.58 (dd, J=15.4, 2.8, H-C(3)); 2.13, 2.10, 2.08, 2.02 (4s, je 3H, 4xOAc); 1.93 (dd, J=15.4, 3.5, H-C(3')); 1.90 (s, 3H, NHAc).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 170.77, 170.34, 170.09, 169.49, 167.55 (5s, 4xOAc, NHAc, C(1)); 97.82 (s, C(2)); 72.50 (d, C(8)); 69.02 (d, C(4)); 68.72 (d, C(7)); 68.22 (d, C(6)); 62.31 (t, C(9)); 52.43 (q, CO₂CH₃); 51.25 (q, OCH₃); 44.67 (d, C(5)); 34.33 (t, C(3)); 22.93 (q, NHAc); 21.00, 20.82, 20.58 (4q, 4xOAc).

CI-MS: 506 (100, [M+1]⁺), 474 (23, [M+1]⁺-CH₃OH), 414 (90, [M+1]⁺-CH₃OH-HOAc).

C₂₁H₃₁NO₁₃ (505.48) Ber. C 49.89, H 6.18, N 2.77

Gef. C 49.81, H 6.23, N 2.69

Methyl-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-talo-2-nonulopyranosid)onat (147)

Verbindung **145** (4.50 g, 7.7 mmol) wurde unter identischen Bedingungen wie oben für **146** beschrieben in **147** (3.74 g, 96%, Schaum) übergeführt.

R_f (AcOEt): 0.26

$[\alpha]_D^{25} = -40.9^\circ$ ($c=1.11$, CHCl_3)

IR (CHCl_3): 3440m, 3030w, 3000m, 2840w, 1745s, 1685s, 1500m, 1460m, 1435m, 1370s, 1335w, 1240-1200s br., 1135m, 1110m, 1090s, 1075m, 1045s, 1015m, 960m, 940w.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 5.48 (ddd, $J=7.9$, 5.7, 2.7, H-C(8)); 5.38 (dd, $J=7.9$, 2.4, H-C(7)); 5.30 (d, $J=10.0$, NH); 5.09 (q, $J=3.1$, H-C(4)); 4.46 (dd, $J=10.0$, 2.4, H-C(6)); 4.39 (dd, $J=12.4$, 2.7, H-C(9)); 4.32 (td, $J=10.0$, 2.9, H-C(5)); 4.12 (dd, $J=12.4$, 5.7, H-C(9')); 3.76 (s, 3H, CO_2CH_3); 3.26 (s, 3H, OCH_3); 2.73 (dd, $J=14.9$, 3.4, H-C(3)); 2.19, 2.13, 2.05, 2.03 (4s, je 3H, 4xOAc); 1.97 (dd, $J=14.9$, 2.8, H-C(3')); 1.91 (s, 3H, NHAc).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): 170.52, 170.06, 169.89, 169.65, 169.06, 168.27 (6s, 4xOAc, NHAc, C(1)); 97.45 (s, C(2)); 70.09 (d, C(6)); 70.00 (d, C(4)); 68.64 (d, C(8)); 67.47 (d, C(7)); 62.21 (t, C(9)); 52.09 (q, CO_2CH_3); 51.77 (q, OCH_3); 45.15 (d, C(5)); 36.35 (t, C(3)); 22.94 (q, NHAc); 21.01, 20.59 (4q, 4xOAc).

CI-MS: 506 (100, $[\text{M}+1]^+$), 414 (56, $[\text{M}+1]^+ - \text{CH}_3\text{OH} - \text{HOAc}$).

$\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{NO}_{13}$ (505.48) Ber. C 49.89, H 6.18, N 2.77

Gef. C 49.80, H 6.23, N 2.65

(Methyl-5-acetamido-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-talo-2-nonulopyranosid)onsäure (149)

Verbindung **147** (500 mg, 989 μmol) wurde mit 1N NaOH (12.5 ml) bei 40°C 2 h behandelt. Das Reaktionsgemisch wurde dann auf eine Dowex 50Wx4 Säule (200-

400 mesh, 1x12 cm) aufgetragen und **149** wurde mit H₂O eluiert. Der Effluent wurde lyophilisiert, wonach **149** (295 mg, 92%) als weisser Schaum erhalten wurde.

R_f (n-PrOH/H₂O 7:3): 0.39

$[\alpha]_D^{25} = -49.9^\circ$ (c=1.14, H₂O)

R_f (n-PrOH/H₂O/HOAc 15:4:0.5): 0.27

IR (KBr): 3400s br., 2930m, 1720s, 1630s, 1545s, 1425m, 1375m, 1330m, 1215m, 1175m, 1120s, 1095s, 1035s, 965w, 920w, 815w, 775w.

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): 4.39 (dd, J=10.8, 1.5, H-C(6)); 4.20 (q, J=3.0, H-C(4)); 4.08 (dd, J=10.8, 2.7, H-C(5)); 3.94 (ddd, J=8.7, 6.2, 2.6, H-C(8)); 3.90 (dd, J=11.8, 2.6, H-C(9)); 3.68 (dd, J=11.8, 6.2, H-C(9')); 3.60 (dd, J=8.7, 1.5, H-C(7)); 3.35 (s, 3H, OCH₃); 2.62 (dd, J=14.3, 3.7, H-C(3)_{eq}); 2.04 (s, 3H, NHAc); 1.95 (dd, J=14.3, 2.6, H-C(3)_{ax}).

¹³C-NMR (50 MHz, D₂O): 174.67, 172.78 (2s, C(1), NHAc); 97.95 (s, C(2)); 71.68 (d, C(8)); 70.18 (d, C(6)); 68.96 (d, C(7)); 65.89 (d, C(4)); 63.25 (t, C(9)); 51.49 (q, OCH₃); 48.38 (d, C(5)); 39.09 (t, C(3)); 22.32 (q, NHAc).

FAB-MS: 324 ([M+1]⁺)

C₁₂H₂₁NO₉ (323.30)

Ber. C 44.58, H 6.55, N 4.33

Gef. C 44.49, H 6.67, N 4.32

(Methyl-5-Acetamido-3,5-didesoxy-β-D-glycero-D-talo-2-nonulopyranosid)onsäure (150)

Verbindung **148** (500 mg, 989 μmol) wurde unter identischen Bedingungen wie oben für **147** beschrieben in **150** (297 mg, 93%) übergeführt.

R_f (n-PrOH/H₂O): 0.33

$[\alpha]_D^{25} = -93.5^\circ$ (c=1.07, H₂O)

R_f (n-PrOH/H₂O/HOAc 15:4:0.5): 0.17

IR (KBr): 3400s br., 2940m, 1735s, 1635s, 1550s, 1425m, 1375m, 1325m, 1245m, 1205m, 1155m, 1115s, 1095s, 1030s, 965w, 915m, 825w.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): 4.36 (dd, $J=11.0$, 1.0 , H-C(6)); 4.33-4.31 (m, 2H, H-C(4), H-C(5)); 4.10 (ddd, $J=9.3$, 5.6 , 2.8 , H-C(8)); 4.04 (dd, $J=12.0$, 2.8 , H-C(9)); 3.87 (dd, $J=12.0$, 5.6 , H-C(9')); 3.80 (dd, $J=9.3$, 1.0 , H-C(7)); 3.47 (s, 3H, OCH_3); 2.45 (dd, $J=15.0$, 2.7 , H-C(3)_{eq}); 2.24 (dd, $J=15.0$, 3.6 , H-C(3)_{ax}); 2.23 (s, 3H, NHAc).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, D_2O): 174.95, 173.02 (2s, C(1), NHAc); 99.37 (s, C(2)); 70.04 (d, C(8)); 68.68 (d, C(7)); 66.41 (d, C(6)); 65.88 (d, C(4)); 63.82 (t, C(9)); 51.51 (q, OCH_3); 47.81 (d, C(5)); 37.43 (t, C(3)); 22.32 (q, NHAc).

FAB-MS: 324 ($[\text{M}+1]^+$)

$\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{NO}_9$ (323.30) Ber. C 44.58, H 6.55, N 4.33

Gef. C 44.45, H 6.69, N 4.37

5-Acetamido-3,5-didesoxy-D-glycero-D-talo-2-nonulosonsäure (N-Acetyl-4-epineuraminsäure) (102) und 5-Acetamido-2,7-anhydro-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-talo-2-nonulopyranosonsäure (151)

Das Glycosid **149** (295 mg, 912 μmol) wurde in 0.025N HCl (15 ml) bei 80°C während der unten angegeben Zeit hydrolysiert. Das Reaktionsgemisch wurde anschl. abgekühlt und auf eine Dowex 1x8 Säule (200-400 mesh, Formiat-Form, 1x20 cm) aufgetragen. Die Säule wurde dann mit H_2O (30 ml) gewaschen und die Produkte wurden mit einem linearen HCO_2H -Gradienten eluiert (0→0.7M aq. HCO_2H , Totalvolumen: 250 ml, Flussrate: 0.5 ml/Min.). Der Effluent wurde fraktioniert und die Produktfraktionen (DC: n-PrOH/ H_2O 7:3) wurden lyophilisiert. Man erhielt **102** und **151** in den unten angegeben Ausbeuten. Das β -D-Glycosid **150** wurde unter gleichen Bedingungen hydrolysiert.

Edukt	Reaktionszeit	102	151
149	30 Min.	236.8 mg (84%)	21.3 mg (9%)
	5 h	90.0 mg (32%)	95.1 mg (39%)
150	80 Min.	223.0 mg (79%)	27.1 mg (11%)
	5 h	107.8 mg (38%)	89.0 mg (36%)

Daten von 102:

R_f (n-PrOH/H₂O 7:3): 0.30

$[\alpha]_D^{25} = -82.0^\circ$ (c=1.2, H₂O)

R_f (n-PrOH/H₂O/HOAc 15:4:0.5): 0.15

IR (KBr): 3600-3000s br., 2930m, 1735m, 1630m, 1550m, 1425m, 1375m, 1325m, 1125m, 1090m, 1025m, 915m.

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): α-D/β-D = 1:6, β-D-Anomer: 4.29 (dd, J=10.9, 1.2, H-C(6)); 4.13 (q, J=3.1, H-C(4)); 4.07 (dd, J=10.9, 3.1, H-C(5)); 3.78 (dd, J=11.7, 2.8, H-C(9)); 3.73 (ddd, J=9.1, 6.2, 2.8, H-C(8)); 3.56 (dd, J=11.7, 6.2, H-C(9')); 3.51 (dd, J=9.1, 1.2, H-C(7)); 2.12 (dd, J=14.7, 3.1, H-C(3)); 2.07 (dd, J=14.7, 3.3, H-C(3')); 1.97 (s, 3H, NHAc).

α-D-Anomer: 4.23 (dd, J=10.7, 1.6, H-C(6)); 4.01 (dd, J=10.7, 2.7, H-C(5)); 3.82 (dd, J=9.0, 6.2, 2.5, H-C(8)); 3.48 (dd, J=9.0, 1.6, H-C(7)); 2.59 (dd, J=14.4, 3.7, H-C(3)); 1.88 (dd, J=14.4, 2.9, H-C(3')); restliche Signale werden von β-D-Anomeren verdeckt.

¹³C-NMR (50 MHz, D₂O): β-D-Anomer: 174.51 (s, C(1)); 173.51 (s, NHAc); 95.48 (s, C(2)); 70.40 (d, C(8)); 68.89 (d, C(7)); 66.44 (d, C(4)); 66.10 (d, C(6)); 63.62 (t, C(9)); 47.97 (d, C(5)); 36.52 (t, C(3)); 22.35 (q, NHAc).

α-D-Anomer: 174.60 (s, C(1)); 173.92 (s, NHAc); 94.46 (s, C(2)); 71.69 (d, C(8)); 65.94 (d, C(6)); 63.33 (t, C(9)); 48.33 (d, C(5)); 39.39 (t, C(3)); restliche Signale werden von β-D-Anomeren verdeckt.

FAB-MS: 310 ([M+1]⁺)

C₁₁H₁₉NO₉ (309.27) Ber. C 42.72, H 6.19, N 4.52

Gef. C 42.91, H 6.12, N 4.67

Daten von 151:

R_f (n-PrOH/H₂O 7:3): 0.37

$[\alpha]_D^{25} = +54.2^\circ$ (c=1.05, H₂O)

R_f (n-PrOH/H₂O/HOAc 15:4:0.5): 0.27

IR (KBr): 3400s br., 2940w, 1740m, 1645m, 1545m, 1435w, 1380w, 1265w, 1200w, 1170m, 1140w, 1070s, 1030m, 915w, 870w, 825w.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): 4.87 (br. s, H-C(6)); 4.52 (dt, $J=10.8, 6.0$, H-C(4)); 4.47 (br. dd, $J=6.0, 1.2$, H-C(5)); 4.32 (d, $J=6.8$, H-C(7)); 3.92-3.87 (m, 1H, H-C(9)); 3.80-3.70 (m, 2H, H-C(9'), H-C(8)); 2.55 (dd, $J=13.4, 6.0$, H-C(3)_{eq}); 2.26 (s, 3H, NHAc); 2.03 (dd, $J=13.4, 10.8$, H-C(3)_{ax}).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, D_2O): 174.97 (s, C(1)); 170.33 (s, NHAc); 104.79 (s, C(2)); 79.11 (d, C(6)); 77.92 (d, C(7)); 71.71 (d, C(8)); 62.71 (d, C(4)); 62.34 (t, C(9)); 50.74 (d, C(5)); 37.02 (t, C(3)); 22.40 (q, NHAc).

FAB-MS: 292 ($[\text{M}+1]^+$)

$\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{NO}_8$ (291.26) Ber. C 45.36, H 5.88, N 4.81
 Gef. C 45.15, H 5.97, N 4.78

Methyl-5-acetamido-4,8,9-tri-O-acetyl-2,7-anhydro-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-talo-2-nonulopyranosonat (153)

Produkt **151** (122 mg, 419 μmol) wurde in Ac_2O /Pyridin (1:1, 3 ml) bei 4°C 24 h acetyliert. Das Reaktionsgemisch wurde dann i.V. eingengt und mehrmals mit Toluol eingedampft. Der Rückstand wurde CH_2Cl_2 (3 ml) aufgenommen und bei 4°C mit einem Überschuss an Diazomethan in Et_2O [198] verestert. Nach dem Einengen und FC (AcOEt /Hexan 5:1) erhielt man **153** (153 mg, 85%) als ein farbloses Öl.

R_f (AcOEt): 0.31 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +55.9^\circ$ ($c=1.23$, CHCl_3)

IR (CHCl_3): 3440m, 3030w, 3000w, 2960w, 1740s, 1675s, 1500m, 1440m, 1370s, 1260-1190s br., 1150s, 1105m, 1040s br., 955w, 905w.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 5.89 (d, $J=8.9$, NH); 5.30 (ddd, $J=11.2, 6.3, 5.0$, H-C(4)); 4.93 (ddd, $J=8.3, 4.1, 2.6$, H-C(8)); 4.58-4.54 (m, H-C(5)); 4.55 (dd, $J=12.4, 2.6$, H-C(9)); 4.47 (d, $J=2.3$, H-C(6)); 4.34 (d, $J=8.3$, H-C(7)); 4.12 (dd, $J=12.4, 4.1$, H-C(9')); 3.85 (s, 3H, CO_2CH_3); 2.40 (dd, $J=13.4, 6.3$, H-C(3)_{eq}); 2.11, 2.06, 2.05, 2.01 (4s, je 3H, 3xOAc, NHAc); 1.95 (dd, $J=13.4, 11.2$, H-C(3)_{ax}).

^{13}C -NMR (50 MHz, CDCl_3): 170.49, 170.03, 169.76, 169.71 (4s, 3xOAc, NHAc); 165.99 (s, C(1)); 103.94 (s, C(2)); 79.29 (d, C(6)); 75.55 (d, C(7)); 70.33 (d, C(8)); 64.40 (d, C(4)); 61.46 (t, C(9)); 53.15 (q, CO_2CH_3); 47.32 (d, C(5)); 33.96 (t, C(3)); 22.98 (q, NHAc); 20.73, 20.63 (3q, 3xOAc).

CI-MS: 432 (100, $[\text{M}+1]^+$), 372 (74, $[\text{M}+1]^+-\text{HOAc}$).

$\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{NO}_{11}$ (431.40)	Ber. C 50.12, H 5.84, N 3.24
	Gef. C 50.23, H 5.79, N 3.28

4. Stereoselektive Deuterierungen an C(3) von N-Acetylneuramin- säure- und N-Acetyl-4-epineuraminsäure-methylglycosiden

Die Bromide **131**, **132** [48], **145** und **146** wurden nach der folgenden allgemeinen Vorschrift mit Tributylzinndeuterid reduziert: Unter Argon und bei 90°C wurde Tributylzinndeuterid (Bu₃SnD, 69 µl, 256 µmol) gefolgt von AIBN (3 mg, 17 µmol) zu einer entgasten Lösung des reinen Bromids (100 mg, 171 µmol) im abs. Toluol (2 ml) zugegeben. Nach 15 Min. wurde abgekühlt und i.V. eingengt. Der Rückstand wurde mit FC (AcOEt/Hexan, Gradient: 3:1→10:3) gereinigt. Ausbeuten: 83-85 mg (96-98%).

Methyl-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3-deutero-3,5-di-desoxy-α-D-erythro-L-manno-2-nonulopyranosid)onat (154) und
Methyl-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3-deutero-3,5-di-desoxy-α-D-erythro-L-gluco-2-nonulopyranosid)onat (155)

Die Umsetzung von **131** führte zu einem untrennbaren Gemisch bestehend aus **154** (87%) und **155** (13%)¹⁷.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): NANA-70: 5.42 (ddd, J=8.4, 5.6, 2.7, H-C(8)); 5.33 (dd, J=8.4, 2.1, H-C(7)); 5.20 (d, J=9.7, NH); 4.85 (dd, J=9.7, 4.6, H-C(4)); 4.30 (dd, J=12.4, 2.7, H-C(9)); 4.11 (dd, J=10.5, 2.1, H-C(6)); 4.10 (dd, J=12.4, 5.6, H-C(9')); 4.06 (q, J=10.5, H-C(5)); 3.81 (s, 3H, CO₂CH₃); 3.32 (s, 3H, OCH₃); 2.54 (d, J=4.6, H-C(3)eq); 2.15, 2.13, 2.04, 2.02 (4s, je 3H, 4xOAc); 1.87 (s, 3H, NHAc).

155: 1.92 (d, J=12.3, H-C(3)ax); alle anderen Signale fallen mit denjenigen von **155** zusammen.

²H-NMR (61.4 MHz, CHCl₃)¹⁸: **154**: 1.90; **155**: 2.60.

¹⁷ Die rel. Verhältnisse wurden anhand der Integrale im ¹H- und ²H-NMR bestimmt.

¹⁸ Die ²H-NMR-Spektren wurden vollständig entkoppelt und die δ-Skala wurde auf CHCl₃ geeicht.

Methyl-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3-deutero-3,5-di-desoxy- β -D-erythro-L-manno-2-nonulopyranosid)onat (156) und Methyl-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3-deutero-3,5-di-desoxy- β -D-erythro-L-gluco-2-nonulopyranosid)onat (157)

Die Umsetzung von **132** führte zu einem untrennbaren Gemisch bestehend aus **156** (78%) und **157** (22%).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): **156**: 5.40 (dd, $J=3.9, 2.3$, H-C(7)); 5.38 (br. d, $J=10.5$, NH); 5.27-5.20 (m, 2H, H-C(4), H-C(8)); 4.80 (dd, $J=12.6, 2.5$, H-C(9)); 4.12 (q, $J=10.5$, H-C(5)); 4.12 (dd, $J=12.6, 7.5$, H-C(9')); 3.92 (dd, $J=10.5, 2.3$, H-C(6)); 3.81 (s, 3H, CO_2CH_3); 3.26 (s, 3H, OCH_3); 2.41 (d, $J=4.9$, H-C(3)eq); 2.15, 2.07, 2.03, 2.01 (4s, je 3H, 4xOAc); 1.87 (s, 3H, NHAc).

157: 1.85 (d, $J=12.2$, H-C(3)ax); alle anderen Signale fallen mit denjenigen von **156** zusammen.

$^2\text{H-NMR}$ (61.4 MHz, CHCl_3): **156**: 1.88; **157**: 2.45.

Methyl-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3-deutero-3,5-di-desoxy- α -D-erythro-L-altro-2-nonulopyranosid)onat (158) und Methyl-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3-deutero-3,5-di-desoxy- α -D-erythro-L-allo-2-nonulopyranosid)onat (159)

Die Umsetzung von **145** führte zu einem untrennbaren Gemisch bestehend aus **158** (>95%) und **159** (<5%).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): **158**: 5.47 (ddd, $J=7.7, 5.7, 2.7$, H-C(8)); 5.39 (br. d, $J=10.0$, NH); 5.38 (dd, $J=7.7, 2.3$, H-C(7)); 5.09 (t, $J=3.3$, H-C(4)); 4.46 (dd, $J=10.9, 2.3$, H-C(6)); 4.40 (dd, $J=12.5, 2.7$, H-C(9)); 4.30 (td, $J=10.5, 3.1$, H-C(5)); 4.12 (dd, $J=12.5, 5.7$, H-C(9')); 3.76 (s, 3H, CO_2CH_3); 3.26 (s, 3H, OCH_3); 2.71 (d, $J=3.4$, H-C(3)eq); 2.19, 2.13, 2.05, 2.03 (4s, je 3H, 4xOAc); 1.91 (s, 3H, NHAc).

159: 1.97 (d, $J=2.9$, H-C(3)ax); alle anderen Signale fallen mit denjenigen von **158** zusammen.

^2H -NMR (61.4 MHz, CHCl_3): **158**: 1.85 ppm; Das ^2H -Signal von **159** konnte nicht beobachtet werden.

Methyl-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3-deutero-3,5-di-desoxy- β -D-erythro-L-altro-2-nonulopyranosid)onat (160**) und Methyl-(methyl-5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3-deutero-3,5-di-desoxy- β -D-erythro-L-allo-2-nonulopyranosid)onat (**161**)**

Die Umsetzung von **146** führte zu einem untrennbaren Gemisch bestehend aus **160** (>95%) und **161** (<5%).

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): **160**: 5.62 (br. d, $J=10.0$, NH); 5.44 (t, $J=2.5$, H-C(7)); 5.22 (dt, $J=8.1$, 2.5, H-C(8)); 4.93 (t, $J=2.9$, H-C(4)); 4.90 (dd, $J=12.4$, 2.5, H-C(9)); 4.35 (td, $J=10.3$, 3.0, H-C(5)); 4.28 (dd, $J=10.6$, 2.3, H-C(6)); 4.16 (dd, $J=12.4$, 8.1, H-C(9')); 3.78 (s, 3H, CO_2CH_3); 3.24 (s, 3H, OCH_3); 2.56 (d, $J=2.7$, H-C(3)eq); 2.13, 2.10, 2.08, 2.03, 1.91 (5s, je 3H, 4xOAc, NHAc).

161: 1.93 (d, $J=3.4$, H-C(3)ax); alle anderen Signale fallen mit denjenigen von **160** zusammen.

^2H -NMR (61.4 MHz, CHCl_3): **160**: 1.95 ppm; Das ^2H -Signal von **161** konnte nicht beobachtet werden.

5. Synthese der N-Acetyl-4-desoxyneuraminsäure

Methyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-2,6-anhydro-4-chlor-3,4,5-tri-desoxy-D-glycero-D-talo-non-2-enoat (172) und Methyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-2,6-anhydro-4-chlor-3,4,5-tridesoxy-D-glycero-D-galacto-non-2-enoat (173)

Zu einer Lösung von **116** (100 mg, 242 μmol) in abs. CHCl_3 (1 ml) wurde unter Argon eine mit HCl-Gas gesättigte Et_2O -Lösung (200 μl) zugegeben und der Ansatz wurde 2 h bei RT gerührt. Dann wurde mit Et_3N (100 μl) bei 0°C neutralisiert und i.V. eingeeengt. Der Rückstand wurde über eine kurze Kieselgelsäule (AcOEt) filtriert und dann mit präp. HPLC (ZorbaxSil, AcOEt/Hexan 2:1) getrennt. Man erhielt **172** (75.5 mg, 69%) und **173** (28 mg, 26%). Die Produkte sind bei RT instabil und sollten bei -20°C gelagert werden.

Daten von 172:

R_f (AcOEt): 0.58

$[\alpha]_D^{25} = -124.0^\circ$ ($c=3.39$, CHCl_3)

UV (EtOH): 243 (5'445)

CD (EtOH): 234 ($\Delta\epsilon = -7.45$)

IR (CHCl_3): 3430w, 3040w, 3000w, 2860w, 1740s, 1690m, 1650w, 1490w, 1440w, 1370m, 1280-1200s br., 1140w, 1110w, 1075w, 1050w, 1015w, 950w.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 6.20 (d, $J=5.8$, H-C(3)); 5.80 (d, $J=10.1$, NH); 5.50 (dd, $J=5.0$, 2.0, H-C(7)); 5.34 (ddd, $J=7.0$, 5.0, 2.6, H-C(8)); 4.78 (ddd, $J=10.8$, 10.1, 4.0, H-C(5)); 4.72 (dd, $J=12.5$, 2.6, H-C(9)); 4.68 (dd, $J=5.8$, 4.0, H-C(4)); 4.42 (dd, $J=10.8$, 2.0, H-C(6)); 4.17 (dd, $J=12.5$, 7.0, H-C(9')); 3.82 (s, 3H, CO_2CH_3); 2.10, 2.08, 2.07 (3s, 3H, 3xOAc); 1.99 (s, 3H, NHAc).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): 170.42, 170.10, 169.85 (4q, 3xOAc, NHAc); 161.41 (s, C(1)); 144.75 (s, C(2)); 108.45 (d, C(3)); 73.03 (d, C(6)); 71.23 (d, C(8)); 67.59 (d, C(7)); 61.99 (t, C(9)); 54.92 (d, C(4)); 52.48 (q, CO_2CH_3); 45.47 (d, C(5)); 22.93 (q, NHAc); 20.72, 20.59, 20.51 (3q, 3xOAc).

CI-MS: 414 (100, $[\text{M}+1]^+-\text{HCl}$), 354 (7, $[\text{M}+1]^+-\text{HCl-HOAc}$), 294 (3, $[\text{M}+1]^+-\text{HCl-2HOAc}$).

$C_{18}H_{24}ClNO_{10}$ (449.85)

Ber. C 48.06, H 5.38, Cl 7.88, N 3.11

Gef. C 48.25, H 5.43, Cl 7.80, N 3.27

Daten von 173:

R_f (AcOEt): 0.46

$[\alpha]_D^{25} = +5.2^\circ$ ($c=1.16$, $CHCl_3$)

UV (EtOH): 235 ($\epsilon=282$)

CD (EtOH): 202 ($\Delta\epsilon = -5.1$), 248 ($\Delta\epsilon = +4.92$)

IR ($CHCl_3$): 3430w, 3030w, 2970m, 2890w, 1740s, 1685m, 1655m, 1500m, 1440m, 1370s, 1250-1200s br., 1135m, 1040s, 950m.

1H -NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 6.14 (d, $J=9.3$, NH); 6.07 (d, $J=2.7$, H-C(3)); 5.48 (dd, $J=5.5$, 2.2, H-C(7)); 5.34 (ddd, $J=6.5$, 5.5, 2.8, H-C(8)); 4.96 (dd, $J=8.8$, 2.8, H-C(4)); 4.62 (dd, $J=12.4$, 2.8, H-C(9)); 4.54 (dd, $J=10.0$, 2.2, H-C(6)); 4.20 (dd, $J=12.4$, 6.5, H-C(9')); 3.96 (q, $J=9$, H-C(5)); 3.81 (s, 3H, CO_2CH_3); 2.15, 2.06, 2.02, 1.99 (4s, je 3H, 3xOAc, NHAc).

^{13}C -NMR (50 MHz, $CDCl_3$): 170.66, 170.59, 170.18, 169.99 (4s, 3xOAc, NHAc); 161.46 (s, C(1)); 144.19 (s, C(2)); 110.63 (d, C(3)); 76.46 (d, C(6)); 70.68 (d, C(8)); 67.76 (d, C(7)); 61.90 (t, C(9)); 54.47 (d, C(4)); 52.50 (q, CO_2CH_3); 51.24 (d, C(5)); 23.17 (q, NHAc); 20.76, 20.72, 20.67 (3q, 3xOAc).

CI-MS: 414 ($[M+1]^+-HCl$)

$C_{18}H_{24}ClNO_{10}$ (449.85)

Ber. C 48.06, H 5.38, Cl 7.88, N 3.11

Gef. C 48.16, H 5.45, Cl 7.89, N 3.09

Methyl-(methyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-3,4,5-tridesoxy- β -D-manno-non-3-en-2-ulopyranosid)onat (174) und Methyl-(methyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-3,4,5-tridesoxy- α -D-manno-non-3-en-2-ulopyranosid)onat (175)

Acetylchlorid (17.2 μ l, 241 μ mol) wurde zu einem Gemisch aus abs. $CHCl_3$ (24 ml) und abs. MeOH (24 ml) zugegeben und die Lösung wurde 15 Min. gerührt bevor **116** (2.0 g, 4.84 mmol) zugesetzt wurde. Nach 40 Min. bei RT wurde mit Et_3N (100 μ l, 717 μ mol) neutralisiert und i.V. eingeeengt. Nach Reinigung mit FC (AcOEt) erhielt

man ein untrennbares Gemisch aus den Anomeren **174** und **175** (2.06 g, 96%) im Verhältnis β -D: α -D = 7:1.

Daten von **174** und **175**:

R_f (AcOEt): 0.24 $[\alpha]_D^{25} = -93.4^\circ$ ($c=1.3$, CHCl_3 , Gemisch α -D: β -D = 1:7)

IR (CHCl_3): 3430m, 3030w, 3000m, 2950w, 1740s, 1685s, 1500m, 1435m, 1370s, 1250-1200s br., 1110s, 1080s, 1040s, 950m.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): β -D-Anomer: 5.91 (s, 2H, H-C(3), H-C(4)); 5.41 (d, $J=10.0$, NH); 5.39 (dd, $J=5.6$, 2.3, H-C(7)); 5.32 (ddd, $J=6.3$, 5.6, 2.4, H-C(8)); 4.64 (t, $J=10.2$, H-C(5)); 4.63 (dd, $J=12.6$, 2.4, H-C(9)); 4.24 (dd, $J=12.5$, 6.3, H-C(9')); 4.05 (dd, $J=10.3$, 2.3, H-C(6)); 3.82 (s, 3H, CO_2CH_3); 3.29 (s, 3H, OCH_3); 2.15, 2.09, 2.04, 1.98 (4s, 3H, 3OAc, NHAc). α -D-Anomer: 5.51 (d, $J=9.0$, NH); 4.46 (dd, $J=12.5$, 2.5, H-C(9)); 4.27 (dd, $J=10.0$, 2.0, H-C(6)); 3.78 (s, 3H, CO_2CH_3); 3.34 (s, 3H, OCH_3); 2.14, 2.12, 2.05 (3s, je 3H, 3OAc); restliche Signale werden vom β -D-Anomeren verdeckt. Verhältnis α -D: β -D = 1:7.

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): β -D-Anomer: 170.36, 170.15, 169.94, 169.78 (4s, 3OAc, NHAc); 167.33 (s, C(1)); 133.79, 125.41 (2d, C(3), C(4)); 96.32 (s, C(2)); 70.85, 70.31, 68.05 (3d, C(6), C(7), C(8)); 62.08 (t, C(9)); 52.57, 51.71 (2q, CO_2CH_3 , OCH_3); 42.77 (d, C(5)); 22.85 (q, NHAc); 20.69, 20.46 (3q, 3OAc). α -D-Anomer: 135.72, 125.24 (2d, C(3), C(4)); 97.51 (s, C(2)); 74.35, 69.82, 67.91 (3d, C(6), C(7), C(8)); 50.86 (q); restliche Signale werden vom β -D-Anomeren verdeckt.

CI-MS: 446 (6, $[\text{M}+1]^+$), 414 (100, $[\text{M}+1]^+ \cdot \text{HOCH}_3$).

Methyl-(methyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-3,4,5-tridesoxy- β -D-manno-2-nonulopyranosid)onat (184) und Methyl-(methyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-3,4,5-tridesoxy- α -D-manno-2-nonulopyranosid)onat (184a) und Methyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-2,6-anhydro-3,4,5-tridesoxy-D-glycero-D-talo-nononat (183)

Ein (7:1)-Gemisch aus **174** und **175** (150 mg, 337 μmol) wurde in AcOEt (4.5 ml) mit $\text{H}_2/\text{Pd-C}$ (10%-Fluka, 417 mg) bei Normaldruck und RT während 90 Min. hydriert.

Nach der Entfernung des Katalysators und Reinigung mit FC (AcOEt) erhielt man ein Gemisch aus **184** und **184a** (141.7 mg, 94%) im Verhältnis 7:1 und **183** (7.1 mg, 5%). **184** wurde von **184a** durch Kristallisation aus AcOEt/Hexan getrennt. **184** und **183** wurden aus dem gleichen Lösungsmittel umkristallisiert. Wurde die Reaktion in MeOH (4.5 ml) durchgeführt, änderten sich die Ausbeuten wie folgt: **184** und **184a** (128.2 mg, 85%), **183** (18.2 mg, 13%).

Daten von **184**:

Smp. 137-138°C

$[\alpha]_D^{25} = +7.0^\circ$ (c=1.0, CHCl₃)

R_f (AcOEt): 0.26

IR (CHCl₃): 3430m, 3015w, 3000m, 2950m, 2870w, 2840w, 1740s, 1675s, 1505s, 1435m, 1370s, 1250-1200s br., 1120s, 1105s, 1080s, 1045s, 1015m, 955m.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 5.50 (d, J=9.8, NH); 5.42 (dd, J=3.6, 2.4, H-C(7)); 5.23 (ddd, J=7.9, 3.6, 2.4, H-C(8)); 4.86 (dd, J=12.4, 2.4, H-C(9)); 4.15 (dd, J=12.4, 7.9, H-C(9')); 4.04 (td, J=10.0, 5.0, H-C(5)); 3.85 (dd, J=10.5, 2.4, H-C(6)); 3.80 (s, 3H, CO₂CH₃); 3.27 (s, 3H, OCH₃); 2.14, 2.07, 2.03, 1.92 (4s, je 3H, 3xOAc, NHAc); 1.92-1.79 (m, 4H, 2H-C(3), 2H-C(4)).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 170.51, 170.42, 169.93, 169.84, 168.49 (5s, 3xOAc, NHAc, C(1)); 97.76 (s, C(2)); 72.33 (d, C(6)); 71.98 (d, C(8)); 68.62 (d, C(7)); 62.34 (t, C(9)); 52.24 (q, CO₂CH₃); 50.76 (q, OCH₃); 43.36 (d, C(5)); 31.34, 25.37 (2t, C(3), C(4)); 22.83 (q, NHAc); 20.69, 20.45 (3q, 3xOAc).

CI-MS: 448 (29, [M+1]⁺), 416 (100, [M+1]⁺-HOCH₃), 388 (9, [M+1]⁺-HOAc), 356 (6, [M+1]⁺-HOCH₃-HOAc).

C₁₉H₂₉NO₁₁ (447.44)

Ber. C 51.00, H 6.53, N 3.13

Gef. C 50.56, H 6.61, N 3.28

Daten von 184a:

Die Daten stammen von einem (7:1)-Gemisch aus **184** und **184a**:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 5.40 (d, J=9.5, NH); 5.35 (dd, J=8.5, 2.3, H-C(7)); 4.34 (dd, J=12.5, 2.5, H-C(9)); 3.79 (s, 3H, CO₂CH₃); 3.31 (s, 3H, OCH₃); 2.16, 2.13, 2.05 (3s, je 3H, 3xOAc); restliche Signale werden vom β-D-Anomeren **184** verdeckt.

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 99.49 (s, C(2)); 74.33 (d, C(6)); 68.29 (d, C(8)); 67.40 (d, C(7)); 63.53 (t, C(9)); 52.04 (q, CO₂CH₃); 51.95 (q, OCH₃); 43.67 (d, C(5)); 31.83, 26.50 (2t, C(3), C(4)); restliche Signale werden vom β-D-Anomeren **184** verdeckt.

Daten von 183:

Smp. 167-168°C

$[\alpha]_D^{25} = +28.8^\circ$ (c=1.05, CHCl₃)

R_f (AcOEt): 0.13

IR (KBr): 3390s, 2960w, 2860w, 1755s, 1740s, 1720s, 1675s, 1535m, 1440w, 1375m, 1325w, 1310w, 1295m, 1280m, 1255m, 1240s, 1220s, 1150w, 1130w, 1105w, 1090w, 1075m, 1035m, 955w, 895w, 865w, 835w, 770w, 690w, 670w.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 5.39 (dd, J=4.4, 2.3, H-C(7)); 5.29 (d, J=9.8, NH); 5.24 (ddd, J=7.5, 4.4, 2.4, H-C(8)); 4.70 (dd, J=12.4, 2.4, H-C(9)); 4.16 (dd, J=12.4, 7.5, H-C(9')); 3.94 (dd, J=11.9, 2.4, H-C(2)); 3.93 (qd, J=10.5, 4.2, H-C(5)); 3.75 (s, 3H, CO₂CH₃); 3.58 (dd, J=10.2, 2.3, H-C(6)); 2.13, 2.07, 2.04 (3s, je 3H, 3xOAc); 1.92 (s, 3H, NHAc); 1.75 (qd, J=12.5, 4.0, H-C(3)ax); 1.72 (m, 2H, H-C(3)eq, H-C(4)eq); 1.54 (qd, J=12.5, 4.0, H-C(4)ax).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 170.56, 170.49, 170.37, 170.20, 169.59 (5s, 3xOAc, NHAc, C(1)); 79.48 (d, C(6)); 76.61 (d, C(2)); 71.95 (d, C(8)); 68.61 (d, C(7)); 62.62 (t, C(9)); 52.18 (q, CO₂CH₃); 44.41 (d, C(5)); 30.48, 27.88 (2t, C(3), C(4)); 23.39 (q, NHAc); 20.95, 20.78 (3q, 3xOAc).

CI-MS: 418 (100, [M+1]⁺), 358 (38, [M+1]⁺-HOAc).

C₁₈H₂₇NO₁₀ (417.42) Ber. C 51.79, H 6.52, N 3.36

Gef. C 51.66, H 6.61, N 3.40

Methyl-(isopropyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-3,4,5-tridesoxy- β -D-manno-non-3-en-2-ulopyranosid)onat (170) und Methyl-(isopropyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-3,4,5-tridesoxy- α -D-manno-non-3-en-2-ulopyranosid)onat (171)

Zu einer Lösung von **116** (1.00 g, 2.42 mmol) in abs. Isopropanol (24 ml) wurde Trifluormethansulfonsäure (100 μ l, 1.14 mmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch wurde 4 h bei RT gerührt. Dann wurde mit Et₃N (1.00 ml, 7.25 mmol) neutralisiert und i.V. eingengt. Der Rückstand wurde mit FC (AcOEt/Hexan 5:1) gereinigt und aus CHCl₃/Hexan umkristallisiert; Ausbeute: 1.11 g (96%). Das Rohprodukt ist ein Gemisch aus dem α -D-Anomer **171** und dem β -D-Anomer **170** im Verhältnis 1:8. Nach einmaligem Umkristallisieren wurde das Verhältnis auf 1:20 erhöht. **170** und **171** konnten durch Chromatographie nicht getrennt werden.

Daten von 170:

Smp. 155-157°C

UV (EtOH): 203 (3980)

R_f (AcOEt): 0.39

CD (EtOH): 205 ($\Delta\epsilon = -11.1$)

$[\alpha]_D^{25} = -63.6^\circ$ (c=1.00, CHCl₃)

IR (CHCl₃): 3440m, 3030w, 3000m, 2980m, 2960w, 2930w, 1740s, 1685s, 1500m, 1435w, 1370s, 1250-1200s br., 1090s, 1030s, 950m, 930w.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 6.01 (dd, J=10.1, 2.5) + 5.82 (dd, J=10.1, 1.9, H-C(3), H-C(4)); 5.48 (d, J=9.6, NH); 5.39 (t, J=3.0, H-C(7)); 5.26 (ddd, J=7.8, 3.0, 2.2, H-C(8)); 4.80 (dd, J=12.4, 2.2, H-C(9)); 4.68 (tt, J=9.9, 2.2, H-C(5)); 4.23 (dd, J=12.4, 7.8, H-C(9')); 4.11 (sept., J=6.1, OCH(CH₃)₂); 4.10 (dd, J=10.0, 3.0, H-C(6)); 3.78 (s, 3H, CO₂CH₃); 2.13, 2.07, 2.03, 1.95 (4s, 3H, 3xOAc, NHAc); 1.22, 1.09 (2d, J=6.1, OCH(CH₃)₂).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 170.76, 170.46, 169.96, 169.89, 167.92 (5s, 3xOAc, NHAc, C(1)); 132.33, 126.48 (2d, C(3), C(4)); 94.86 (s, C(2)); 72.39 (d, C(6)); 71.05 (d, C(8)); 69.29 (d, OCH(CH₃)₂); 67.65 (d, C(7)); 62.67 (t, C(9)); 52.54 (q, CO₂CH₃); 42.82 (d, C(5)); 24.46, 22.61 (2q, OCH(CH₃)₂); 23.08 (q, NHAc); 20.92, 20.64, 20.60 (3q, 3xOAc).

CI-MS: 474 (3, $[M+1]^+$), 414 (100, $[M+1]^+-HOCH(CH_3)_2$).

$C_{21}H_{31}NO_{11}$ (473.48)

Ber. C 53.27, H 6.59, N 2.96

Gef. C 53.18, H 6.40, N 2.81

Daten von 171:

Die Daten stammen von einem (1:2)-Gemisch aus **170** und **171**:

Smp. 85-87°C

$[\alpha]_D^{25} = -25.3^\circ$ (c=1.00, $CHCl_3$)

R_f (AcOEt): 0.33

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 5.99 (dd, $J=10.2, 1.8$) + 5.82 (dd, $J=10.1, 2.6$, H-C(3), H-C(4)); 5.49 (d, $J=9.4$, NH); 5.42 (td, $J=6.2, 2.5$, H-C(8)); 5.33 (dd, $J=6.2, 1.9$, H-C(7)); 4.51 (dd, $J=12.5, 2.5$, H-C(9)); 4.48 (tdd, $J=10.0, 2.6, 1.8$, H-C(5)); 4.25 (dd, $J=12.5, 6.2$, H-C(9')); 4.21 (dd, $J=10.0, 1.9$, H-C(6)); 3.97 (sept, $J=6.2$, $CH(CH_3)_2$); 3.76 (s, 3H, CO_2CH_3); 2.13, 2.12, 2.05, 1.98 (4s, 3H, 3xOAc, NHAc); 1.21, 1.18 (2d, $J=6.2$, $CH(CH_3)_2$).

^{13}C -NMR (50 MHz, $CDCl_3$): 170.53, 170.28, 169.91, 168.82 (5s, 3xOAc, NHAc, C(1)); 134.78, 126.38 (d, C(3), C(4)); 97.92 (s, C(2)); 74.32 (d, C(6)); 70.21 (d, C(8)); 68.29 (d, $CH(CH_3)_2$); 67.98 (d, C(7)); 62.14 (t, C(9)); 52.43 (q, CO_2CH_3); 42.95 (d, C(5)); 24.05, 23.59 (2q, $CH(CH_3)_2$); 23.04 (q, NHAc); 20.95, 20.64, 20.49 (3q, 3xOAc).

CI-MS: 414 ($[M+1]^+-HOCH(CH_3)_2$)

Methyl-(isopropyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-3,4,5-tridesoxy- β -D-manno-2-nonulopyranosid)onat (182) und Methyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-2,6-anhydro-3,4,5-tridesoxy-D-glycero-D-talo-nononat (183)

Verbindung **170** (835 mg, 1.76 mmol) wurde mit $H_2/Pd-C$ (10%-Fluka, 417 mg) in AcOEt (25 ml) bei Normaldruck und RT während 90 Min. hydriert. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators und Reinigung mit FC (AcOEt) erhielt man **182** (768 mg, 92%) und **183** (59 mg, 8%). Beide Produkte wurden aus AcOEt/Hexan umkristalli-

siert. Wurde die Hydrierung in MeOH durchgeführt, änderten sich die Ausbeuten wie folgt: **182** (67%) und **183** (32%).

Daten von **182**:

Smp. 146-148°C

$[\alpha]_D^{25} = +6.5^\circ$ (c=0.96, CHCl₃)

R_f (AcOEt): 0.27

IR (KBr): 3400m br., 3260m, 3080w, 2980w, 1745s, 1645m, 1565m, 1440m, 1370s, 1320m, 1280m, 1250s, 1220s, 1195m, 1165m, 1145m, 1100m, 1080s, 1040s, 1000m, 950m, 865w, 805w, 755w, 690w.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 5.57 (d, J=9.2, NH); 5.42 (t, J=2.5, H-C(7)); 5.19 (dt, J=8.3, 2.5, H-C(8)); 4.94 (dd, J=12.4, 2.5, H-C(9)); 4.18 (dd, J=12.4, 8.3, H-C(9')); 4.05 (sept., J=6.2, OCH(CH₃)₂); 3.98 (m, 2H, H-C(5), H-C(6)); 3.77 (s, 3H, CO₂CH₃); 2.13, 2.07, 2.04 (3s, 3H, 3xOAc); 1.91 (s, 3H, NHAc); 2.15 und 1.90-1.70 (m, 4H, 2H-C(3), 2H-C(4)); 1.25, 1.06 (2d, J=6.1, OCH(CH₃)₂).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 170.94, 170.51, 170.19, 169.51, 169.25 (5s, 3xOAc, NHAc, C(1)); 96.47 (s, C(2)); 73.18 (d, C(6)); 72.81 (d, C(8)); 69.25 (d, C(7)); 66.46 (d, OCH(CH₃)₂); 62.70 (t, C(9)); 52.25 (q, CO₂CH₃); 43.90 (t, C(5)); 32.35, 25.78 (2t, C(3), C(4)); 24.03, 22.54 (2q, OCH(CH₃)₂); 23.29 (q, NHAc); 20.99, 20.75, 20.70 (3q, 3xOAc).

CI-MS: 476 (8, [M+1]⁺), 416 (100, [M+1]⁺-HOCH(CH₃)₂), 356 (6, [M+1]⁺-HOAc-HOCH(CH₃)₂).

C₂₁H₃₃NO₁₁ (475.49) Ber. C 53.05, H 6.99, N 2.95

Gef. C 53.10, H 6.83, N 2.89

5-Acetamido-3,4,5-tridesoxy-D-manno-2-nonulosonsäure (109) und 5-Acetamido-2,7-anhydro-3,4,5-tridesoxy-α-D-manno-2-nonulosonsäure (188)

Verbindung **182** (500 mg, 1.05 mmol) wurde 2 h bei 40°C mit 1N NaOH (12.5 ml) verseift. Das Reaktionsgemisch wurde dann auf RT abgekühlt und auf eine Do-

wex 50Wx4(H⁺)-Säule aufgetragen. Die Produkte wurden mit H₂O eluiert und der Effluent wurde lyophilisiert. Der Rückstand wurde bei 80°C mit 0.025N HCl (15 ml) während der unten angegeben Zeit hydrolysiert. Das Reaktionsgemisch wurde dann abgekühlt und auf eine Dowex 1x8-Säule (200-400 mesh, NaHCO₂-Form, 1x20 cm) aufgetragen. Elution mit einem linearen HCO₂H-Gradienten (0→0.7M HCO₂H, Totalvolumen: 250 ml, Flussrate: 0.5 ml/Min.) und Lyophilisierung der Produktfraktionen (DC: n-PrOH/H₂O 7:3) ergab **109** und **188** in den unten angegeben Ausbeuten:

Reaktionszeit	109	188
15 Min.	262.5 mg (85.1%)	24.9 mg (8.6%)
2 h	81.4 mg (26.4%)	188.7 mg (65.2%)
6 h	15.1 mg (4.9%)	228.4 mg (78.9%)

Daten von **109**:

R_f (n-PrOH/H₂O 7:3): 0.32 $[\alpha]_D^{25} = -44.1^{\circ}$ (c=0.81, H₂O)

IR (KBr): 3700-2400s br., 3000m, 2930s, 2650m, 2530w, 1725s, 1660s, 1530s, 1460m, 1430m, 1375m, 1320m, 1270m, 1240m, 1205m, 1160m, 1125s, 1105m, 1090m, 1070s, 1050m, 1035m, 1025s, 990m, 950m, 930m, 870m, 810w, 730m, 700m.

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): 4.05-3.97 (m, H-C(5), H-C(6)); 3.84 (dd, J=11.8, 2.7, H-C(9)); 3.77 (ddd, J=9.2, 6.3, 2.7, H-C(8)); 3.62 (dd, J=11.8, 6.3, H-C(9')); 3.57 (d, J=9.2, H-C(7)); 2.10-1.80 (m, 2H-C(3), 2H-C(4)); 2.00 (s, 3H, NHAc).

¹³C-NMR (50 MHz, D₂O): 174.73, 174.44 (2s, NHAc, C(1)); 94.78 (s, C(2)); 71.71 (d, C(6)); 70.38 (d, C(8)); 68.73 (d, C(7)); 63.64 (t, C(9)); 44.86 (d, C(5)); 31.11, 24.61 (2t, C(3), C(4)); 22.36 (q, NHAc).

FAB-MS: 294 ([M+1]⁺), 276 ([M+1]⁺-H₂O).

C₁₁H₁₉NO₈ (293.28)

Ber. C 45.05, H 6.53, N 4.78

Gef. C 45.20, H 6.57, N 4.66

Daten von 188:

R_f (n-PrOH/H₂O 7:3): 0.32

[α]_D²⁵ = +63.2° (c=1.12, H₂O)

IR (KBr): 3700-3000s br., 2940w, 1740m, 1635s, 1550m, 1440w, 1375w, 1310w, 1200m, 1155s, 1080m, 1035m, 990w, 970w, 920w, 900w, 740w.

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): 4.65 (br. s, 1H, H-C(6)); 4.23 (m, 1H, H-C(7)); 3.91 (m, 1H, H-C(5)); 3.76 (m, 1H, H-C(9)); 3.62 (m, 1H, H-C(9')); 3.59 (m, 1H, H-C(8)); 2.17 (m, 1H, H-C(4)ax); 2.05 (s, 3H, NHAc); 1.99 (m, 1H, H-C(3)ax); 1.91 (br. dd, 1H, H-C(3)eq); 1.75 (m, 1H, H-C(4)eq).

Die Kopplungskonstanten wurden durch Simulation auf Aspect 2000 (Bruker) mit PANIC-Software bestimmt:

J _{3eq,3ax} = -14.3	J _{3eq,4ax} = +6.2	J _{3eq,4eq} = +1.1	J _{3eq,5} = +0.6
J _{3ax,4ax} = +12.7	J _{3ax,4eq} = +5.9	J _{4ax,4eq} = -14.9	J _{4ax,5} = +5.4
J _{4eq,5} = +1.9	J _{4eq,6} = +1.9	J _{5,6} = +1.8	J _{6,7} = +0.8
J _{7,8} = +7.4	J _{8,9} = +3.0	J _{8,9'} = +5.9	J _{9,9'} = -11.9

¹³C-NMR (50 MHz, D₂O): 174.02, 170.91 (2s, NHAc, C(1)); 105.85 (s, C(2)); 79.20 (d, C(6)); 78.82 (d, C(7)); 71.82 (d, C(8)); 62.43 (t, C(9)); 46.16 (d, C(5)); 28.16, 21.50 (2t, C(3), C(4)); 22.25 (q, NHAc).

FAB-MS: 276 ([M+1]⁺)

C₁₁H₁₇NO₇ (275.26) Ber. C 47.99, H 6.22, N 5.09
 Gef. C 47.89, H 6.25, N 5.15

Methyl-5-acetamido-8,9-di-O-acetyl-2,7-anhydro-3,4,5-tridesoxy-α-D-manno-2-nonulopyranosonat (189)

Verbindung **188** (100 mg, 363 μmol) wurde mit Ac₂O/Pyridin (1:1, je 1.8 ml) bei 0°C 6 h acetyliert. Der Überschuss von Ac₂O wurde dann bei 0°C mit MeOH (15 ml) solvolysiert, das Gemisch wurde i.V. eingeeengt und mehrmals mit Toluol eingedampft. Der Rückstand wurde in CH₂Cl₂ (3 ml) aufgenommen und es wurde bei 0°C mit

Diazomethan in Et₂O (4 ml) [198] verestert. Nach 15 Min. wurde i.V. eingeeengt und mit FC (AcOEt) gereinigt. Man erhielt **189** (126.1 mg, 93%) als weissen Schaum.

R_f (AcOEt): 0.22

$[\alpha]_D^{25} = +47.2^\circ$ (c=1.16, CHCl₃)

IR (CHCl₃): 3440m, 3030m, 3000m, 2960m, 1740s, 1670s, 1500s, 1440m, 1370s, 1310m, 1250-1200s br., 1155m, 1100m, 1075m, 1040m, 1000w, 960w, 930w, 910w, 875w.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 6.17 (d, J=8.7, NH); 4.96 (ddd, J=7.8, 4.6, 2.7, H-C(8)); 4.54 (dd, J=12.4, 2.7, H-C(9)); 4.37 (br. s, 1H, H-C(6)); 4.27 (dd, J=7.8, 0.5, H-C(7)); 4.15 (dd, J=12.4, 4.6, H-C(9')); 4.10 (m, 1H, H-C(5)); 3.84 (s, 3H, CO₂CH₃); 2.12 (m, 1H), 1.97-1.93 (m, 2H), 1.78-1.72 (m, 1H, 2H-C(3), 2H-C(4)); 2.09, 2.08, 2.02 (3s, 3H, 2xOAc, NHAc).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 170.49, 169.82, 169.49 (3s, 2xOAc, NHAc); 166.95 (s, C(1)); 105.20 (s, C(2)); 79.51 (d, C(6)); 76.53 (d, C(7)); 70.67 (d, C(8)); 61.74 (t, C(9)); 52.90 (q, CO₂CH₃); 44.79 (d, C(5)); 27.90 und 22.11 (2t, C(3), C(4)); 23.11 (q, NHAc); 20.78, 20.62 (2q, 2xOAc).

CI-MS: 374 ([M+1]⁺)

C₁₆H₂₃NO₉ (373.36)

Ber. C 51.47, H 6.21, N 3.75

Gef. C 51.38, H 6.25, N 3.69

6. Versuche zur Synthese der N-Acetyl-4-desoxy-4-fluor-neuraminsäure

Methyl-(5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-2,3,4,5-tetradesoxy-β-D-mannon-3-en-2-ulosylfluorid)onat (199) und Methyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-2,6-anhydro-3,4,5-tridesoxy-4-fluor-D-glycero-D-talo-non-2-en-oat (200)

Diäthylamino-schwefeltrifluorid (DAST, 80 µl, 605 µmol) wurde unter Argon zu einer Lösung von **138** (50 mg, 121 µmol) in abs. CH₂Cl₂ (500 µl) bei -20°C tropfenweise zugegeben. Nach 30 Min. wurde bei -20°C MeOH (100 µl) zugesetzt und das Reaktionsgemisch wurde i.V. eingengt. Nach Filtration über Kiesegel (AcOEt) und Trennung mit semi-präp. HPLC (Zorbax-Sil, 250x9.4 mm, AcOEt/Hexan 5:1) erhielt man **199** (31.8 mg, 63.7%) und ein Gemisch aus **200** und **166** im Verhältnis 2:1 (13.3 mg, 26.6%). **200** wurde von **116** getrennt durch Behandlung dieses Gemisches mit H₂O (50 µl) und CF₃CO₂H (15 µl) in THF (1 ml) während 8 h. Nach Neutralization mit Et₃N (50 µl), Einengen i.V., FC (AcOEt/Hexan 5:1) und Kristallisation aus CHCl₃/Hexan erhielt man reines **200** (8.9 mg, 17.8%) und die Hydrolyseprodukte **138**, **139** und **140**.

Daten von 199:

R_f (AcOEt): 0.41
 [α]_D²⁵ = -108.1° (c=1.57, CHCl₃)

UV (EtOH): 207 (3'400)
 CD (EtOH): 212 (Δε = -7.25)

IR (CHCl₃): 3440w, 3000w, 1750s, 1690m, 1505m, 1445m, 1375m, 1310m, 1250-1200m, 1115m, 1180m, 1040m, 960w, 770m, 715s, 670m.

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): 6.13 (dt, J=10.1, 1.7, J(F,H)=1.7, H-C(3)); 5.98 (dd, J=10.1, 2.5, H-C(4)); 5.63 (d, J=9.2, NH); 5.42 (dd, J=7.4, 2.3, H-C(7)); 5.32 (ddd, J=7.4, 5.4, 2.5, H-C(8)); 4.68 (qt, J=10.0, 2.0, J(F,H)=10.0, H-C(5)); 4.40 (dd, J=12.6, 2.5, H-C(9)); 4.25 (dd, J=10.5, 2.3, H-C(6)); 4.15 (dd, 12.6, 5.4, H-C(9')); 3.85 (s, 3H, CO₂CH₃); 2.15, 2.08, 2.06, 2.00 (4s, je 3H, 3xOAc + NHAc).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 170.60, 170.13, 170.06, 169.60 (4s, 3xOAc + NHAc);

165.05 (d, $J(\text{F},\text{C})=34.9$, C(1)); 136.59 ($J(\text{F},\text{C})=8.1$, C(4)); 122.49 (dd, $J(\text{F},\text{C})=27.9$, C(3)); 103.40 (d, $J(\text{F},\text{C})=224.5$, C(2)); 72.01 (d, C(6)); 69.29 (d, C(8)); 66.75 (d, C(7)); 62.12 (t, C(9)); 53.31 (q, CO_2CH_3); 42.72 (d, C(5)); 23.15 (q, NHAc); 20.64 (3q, 3xOAc).

^{19}F -NMR (250 MHz, CDCl_3 , Ref.: CFCI_3): -37.34 (d, $J(\text{F},\text{H-5})=10.5$).

CI-MS: 414 (100, $[\text{M}+1]^+-\text{HF}$), 354 (11, $[\text{M}+1]^+-\text{HF-HOAc}$), 294 (4, $[\text{M}+1]^+-\text{HF-2HOAc}$).

$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{FNO}_{10}$ (433.39)

Ber. C 49.88, H 5.58, N 3.23, F 4.38

Gef. C 49.99, H 5.62, N 3.20, F 4.21

Daten von 200:

R_f (AcOEt/Hexan 5:1): 0.26

UV (EtOH): 234 (ϵ 985)

$[\alpha]_D^{25} = -43.9^\circ$ ($c=1.1$, CHCl_3)

CD (EtOH): 244 ($\Delta\epsilon = +3.77$)

IR (CHCl_3): 3450m, 3320w, 3030w, 3000m, 2960m, 1745s, 1690s, 1660m, 1505m, 1440m, 1375s, 1280-1200s br., 1145m, 1115m, 1080m, 1050m, 1030m, 975m, 960m, 940m, 910m, 880w, 850w, 715s, 665m.

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): 6.16 (dd, $J=5.7$, 2.0 ($=J_{\text{F},\text{H}}$), H-C(3)); 5.79 (d, $J=10.2$, NH); 5.48 (dd, $J=5.2$, 2.0, H-C(7)); 5.34 (ddd, $J=7.0$, 5.2, 2.6, H-C(8)); 4.91 (ddd, $J=51.0$ ($=J_{\text{F},\text{H}}$), 5.8, 3.3, H-C(4)); 4.69 (dd, $J=12.5$, 2.6, H-C(9)); 4.55 (dddd, $J=25.0$ ($=J_{\text{F},\text{H}}$), 11.7, 10.2, 3.3, H-C(5)); 4.26 (ddd, $J=11.7$, 3.6 ($=J_{\text{F},\text{H}}$), 2.0, H-C(6)); 4.16 (dd, $J=12.5$, 7.0, H-C(9')); 3.83 (s, 3H, CO_2CH_3); 2.11, 2.08, 2.07, 1.99 (4s, je 3H, 3xOAc, NHAc).

^{13}C -NMR (50 MHz, CDCl_3): 170.47, 170.05, 169.86 (4s, 3xOAc + NHAc); 161.40 (d, $J(\text{F},\text{C})=1.7$, C(1)); 147.56 (d, $J(\text{F},\text{C})=9.2$, C(2)); 104.37 (dd, $J=15.6$, C(3)); 81.73 (dd, $J(\text{F},\text{C})=173.3$, C(4)); 73.17 (d, C(6)); 71.10 (d, C(8)); 67.36 (d, C(7)); 61.99 (t, C(9)); 52.57 (q, CO_2CH_3); 45.36 (dd, $J(\text{F},\text{C})=17.1$, C(5)); 22.87 (q, NHAc); 20.69, 20.59, 20.53 (3q, 3xOAc).

CI-MS: 414 (100, $[\text{M}+1]^+-\text{HF}$), 354 (9, $[\text{M}+1]^+-\text{HF-HOAc}$), 294 (4, $[\text{M}+1]^+-\text{HF-2HOAc}$).

C₁₈H₂₄FNO₁₀ (433.39) Ber. C 49.88, H 5.58, N 3.23, F 4.38
Gef. C 49.69, H 5.60, N 3.15, F 4.44

Methyl-(methyl-5-acetamido-3,5-didesoxy-8,9-O-isopropyliden-β-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosid)onat (193)

N-Acetylneuraminsäure **2** (5.00 g, 16.17 mmol) wurde 48 h in abs. MeOH (500 ml) in Gegenwart von Dowex 50Wx4 (200-400 mesh, 12.5 g) am Rückfluss erhitzt. Dann wurde das Gemisch auf RT abgekühlt, das Harz wurde abfiltriert und das Filtrat wurde i.V. eingengt. Der Rückstand (3 g) wurde im abs. Aceton (50 ml) aufgenommen und TsOH·H₂O (50 mg) wurde zugegeben. Nach 3 h bei RT wurde die Säure mit Et₃N (1 ml) neutralisiert und das Aceton wurde eingedampft. Der Rückstand wurde mit FC (AcOEt) gereinigt und aus Et₂O/MeOH kristallisiert. Ausbeute: 1.80 g (30%).

Smp. 200-201°C

R_f (CHCl₃/MeOH 4:1): 0.42

[α]_D²⁵ = - 42.4° (c=1.16, MeOH)

IR (KBr): 3420s br., 3260s br., 3090m, 2990m, 2930m, 2910m, 2880m, 2840w, 1740s, 1620s, 1580s, 1435m, 1405w, 1375m, 1330m, 1295s, 1265m, 1215s, 1190m, 1170m, 1150m, 1130s, 1100s, 1070s, 1040s, 980m, 940m, 915m, 900w, 855m, 820w, 785w, 690w, 650w, 610m.

¹H-NMR (400 MHz, (d₆)Aceton): 7.43 (d, J=7.8, NH); 4.86 (d, J=4.5, HO-C(7)); 4.29 (d, J=5.6, HO-C(4)); 4.25 (dt, J=7.9, 6.0, H-C(8)); 4.05 (dd, J=8.5, 6.2, H-C(9)); 4.03 (dddd, J=11.1, 10.5, 5.6, 5.1, H-C(4)); 3.90 (dd, J=8.4, 5.8, H-C(9')); 3.74 (s, 3H, CO₂CH₃); 3.72 (td, J=10.5, 7.8, H-C(5)); 3.52 (dd, J=10.5, 1.6, H-C(6)); 3.48 (ddd, J=7.9, 4.5, 1.6, H-C(7)); 3.22 (s, 3H, OCH₃); 2.30 (dd, J=13.0, 5.1, H-C(3)eq); 1.98 (s, 3H, NHAc); 1.64 (dd, J=13.0, 11.1, H-C(4)ax); 1.29, 1.23 (2s, 3H, C(CH₃)₂).

¹³C-NMR (50 MHz, (d₆)Aceton): 173.65 (s, NHAc); 169.09 (s, C(1)); 109.12 (s, C(CH₃)₂); 99.79 (s, C(2)); 75.44, 72.80, 71.03 (3d, C(6), C(7), C(8)); 68.13 (t, C(9)); 66.76 (d, C(4)); 53.97, 52.49 (2q, CO₂CH₃, OCH₃); 51.04 (d, C(5)); 42.54 (t, C(3)); 27.21, 25.73 (2q, C(CH₃)₂); 22.83 (q, NHAc).

CI-MS: 378 (61, [M+1]⁺), 346 (47, [M+1]⁺-HOCH₃), 328 (100, [M+1]⁺-HOCH₃-H₂O).

$C_{16}H_{27}NO_9$ (377.39) Ber. C 50.92, H 7.21, N 3.71
Gef. C 50.99, H 7.25, N 3.60

Methyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-2,6-anhydro-3,5-didesoxy-4-O-(*t*-butyldimethylsilyl)-D-glycero-D-talo-non-2-enoat (205)

Ein Gemisch aus **138**, **139** und **140** (1.04 g, 2.41 mmol; erhalten durch Hydrolyse von **116** (1.0 g, 2.41 mmol)) wurde in abs. DMF (18 ml) 24 h bei RT mit TBDMSCl (610 mg, 4.05 mmol) und Imidazol (460 mg, 6.75 mmol) behandelt. Danach wurde i.V. eingeeengt, der Rückstand wurde in CH_2Cl_2 (25 ml) aufgenommen und mit H_2O (3x10 ml) gewaschen. Nach dem Trocknen ($MgSO_4$) wurde i.V. konzentriert und mit FC (AcOEt/Hexan, Gradient 1:1→2:1) gereinigt. Kristallisation aus AcOEt/Hexan ergab 1.16 g (88%) **205**.

Smp. 123-124°C

UV (EtOH): 230 (7'730)

R_f (AcOEt/Hexan 2:1): 0.26

CD (EtOH): 203 ($\Delta\epsilon = -12.3$), 223 ($\Delta\epsilon = -5.3$),

$[a]_D^{25} = -74.5^\circ$ ($c=1.15$, $CHCl_3$)

254 ($\Delta\epsilon = +2.6$)

IR ($CHCl_3$): 3440m, 3030w, 3000m, 2960m, 2940m, 2890w, 2860m, 1740s, 1685s, 1660m, 1500s, 1475m, 1440m, 1375s, 1300s, 1280-1200s, 1140m, 1110s, 1090s, 1035s, 980s, 960m, 920w, 890w, 840m, 835m, 800-710m.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 6.02 (d, $J=5.5$, H-C(3)); 5.57 (d, $J=10.0$, NH); 5.45 (dd, $J=4.6$, 2.2, H-C(7)); 5.36 (ddd, $J=7.3$, 4.6, 2.6, H-C(8)); 4.77 (dd, $J=12.4$, 2.6, H-C(9)); 4.34 (td, $J=10.5$, 3.8, H-C(5)); 4.19 (dd, $J=12.4$, 7.3, H-C(9'))); 4.18 (dd, $J=10.6$, 2.2, H-C(6)); 4.17 (dd, $J=5.5$, 3.8, H-C(4)); 3.81 (s, 3H, CO_2CH_3); 2.11, 2.07, 2.06 (3s, je 3H, 3xOAc); 1.93 (s, 3H, NHAc); 0.91 (s, 9H, $C(CH_3)_3$); 0.12, 0.11 (2s, je 3H, $Si(CH_3)_2$).

^{13}C -NMR (50 MHz, $CDCl_3$): 170.37, 170.06, 169.92, 169.39 (4s, 3xOAc + NHAc); 162.07 (s, C(1)); 144.48 (s, C(2)); 109.64 (d, C(3)); 72.95 (s, C(6)); 71.37 (d, C(8)); 67.94 (d, C(7)); 62.48 (d, C(4)); 62.15 (t, C(9)); 52.27 (q, CO_2CH_3); 46.33 (d, C(5)); 25.63 (q, $C(CH_3)_3$); 23.09 (q, NHAc); 20.68, 20.59 (3q, 3xOAc); 17.92 (s, $C(CH_3)_3$); -4.43, -4.92 (2q, $Si(CH_3)_2$).

CI-MS: 546 (38, $[M+1]^+$), 414 (100, $[M+1]^+$ -HOSi(CH_3) $_2$ C(CH_3) $_3$).

$C_{24}H_{39}NO_{11}Si$ (545.66)

Ber. C 52.83, H 7.2, N 2.57

Gef. C 52.55, H 7.3, N 2.65

Methyl-(methyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-3-brom-4-O-(t-butyl-dimethylsilyl)-3,5-didesoxy- α -D-erythro-L-allo-2-nonulopyranosid)onat (206) und Methyl-(methyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-3-brom-4-O-(t-butyl-dimethylsilyl)-3,5-didesoxy- β -D-erythro-L-altro-2-nonulopyranosid)onat (207)

Zu einer Lösung von **205** (2.29 g, 4.19 mmol) in abs. MeOH (20 ml) wurde NBS (896 mg, 5.04 mmol) in einer Portion zugegeben und das Gemisch wurde 2 h bei RT gerührt. Das überschüssige NBS wurde mit 3,4-Dihydro-2H-pyran (1 ml) zerstört und das Ganze wurde i.V. eingengt. Nach FC (AcOEt/Hexan, Gradient 1:1→2:1) erhielt man ein mit Chromatographie nicht trennbares Gemisch aus **206** und **207** (2.65 g, 96%) im Verhältnis 7:5.

Daten eines (7:5)-Gemisches aus **206** und **207**:

R_f (AcOEt/Hexan 3:1): 0.37 (**206** und **207** werden nicht getrennt).

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): **206**: 5.46 (ddd, $J=8.8, 5.2, 2.7$, H-C(8)); 5.37 (d, $J=9.7$, NH); 5.32 (dd, $J=8.8, 2.2$, H-C(7)); 4.88 (dd, $J=10.5, 2.2$, H-C(6)); 4.30-4.10 (m, 5H, H-C(3), H-C(4), H-C(5), H-C(9), H-C(9')); 3.79 (s, 3H, CO_2CH_3); 3.30 (s, 3H, OCH_3); 2.16, 2.11, 2.06 (3s, je 3H, 3xOAc); 1.93 (s, 3H, NHAc); 0.94 (s, 9H, $SiC(CH_3)_3$); 0.23, 0.08 (2s, je 3H, $Si(CH_3)_2$). **207**: 5.40 (dd, $J=3.5, 2.5$, H-C(7)); 5.33 (d, $J=10.5$, NH); 5.29 (ddd, $J=8.0, 3.5, 2.5$, H-C(8)); 4.98 (dd, $J=12.5, 2.5$, H-C(9)); 4.76 (td, $J=10.5, 3.0$, H-C(5)); 4.30-4.10 (m, 4H, H-C(3), H-C(4), H-C(6), H-C(9')); 3.82 (s, 3H, CO_2CH_3); 3.23 (s, 3H, OCH_3); 2.16, 2.07, 2.03 (3s, je 3H, 3xOAc); 1.91 (s, 3H, NHAc); 0.94 (s, 9H, $SiC(CH_3)_3$); 0.23, 0.08 (2s, je 3H, $Si(CH_3)_2$).

CI-MS: 656 + 658 (je 100, $[M+1]^+$)

$C_{25}H_{42}BrNO_{12}Si$ (656.61)

Ber. C 45.73, H 6.45, N 2.13

Gef. C 45.60, H 6.49, N 2.08

Methyl-(methyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-3,5-didesoxy- α -D-glycero-D-talo-2-nonulopyranosid)onat (208) und Methyl-(methyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-3,5-didesoxy- β -D-glycero-D-talo-2-nonulopyranosid)onat (209)

Ein (7:5)-Gemisch aus **206** und **207** (7.86 g, 11.19 mmol) wurde im entgasten abs. Toluol (60 ml) bei 90°C mit Bu₃SnH (5.71 ml, 21.55 mmol) und AIBN (196 mg, 1.2 mmol) während 30 Min. debromiert. Das Gemisch wurde dann abgekühlt und i.V. eingengt. Nach FC (AcOEt/Hexan, Gradient 1:1→3:1) erhielt man ein Anomeren-gemisch, das mit Chromatographie nicht getrennt werden konnte. Dieses Gemisch wurde mit Tetrabutylammoniumfluorid Trihydrat (7.55 g, 23.94 mmol) in THF (60 ml) bei RT entsilyliert (1 h). Nach Einengen i.V. und FC (AcOEt) erhielt man ein Gemisch aus **208** und **209**, das mit präp. HPLC (Zorbax-Sil: 250x21.2 mm, AcOEt) getrennt wurde. Ausbeuten: **208** (2.35 g, 42%) und **209** (2.58 g, 46%).

Daten von 208:

R_f (AcOEt): 0.11

[α]_D²⁵ = -18.5° (c=1.14, CHCl₃)

IR (CHCl₃): 3440m, 3360m, 3030w, 3000m, 2960m, 2850w, 1740s, 1675s, 1505m, 1435m, 1370s, 1325w, 1250-1200s br., 1115s, 1075s, 1040s, 1010m, 960m.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 5.85 (d, J=9.4, NH); 5.49 (ddd, J=8.0, 5.8, 2.7, H-C(8)); 5.29 (dd, J=8.0, 2.2, H-C(7)); 4.51 (dd, J=10.9, 2.2, H-C(6)); 4.38 (dd, J=12.4, 2.7, H-C(9)); 4.16 (dd, J=12.4, 5.8, H-C(9')); 4.13 (m, 1H, H-C(4)); 4.00 (ddd, J=10.9, 9.4, 2.8, H-C(5)); 3.77 (s, 3H, CO₂CH₃); 3.29 (s, 3H, OCH₃); 2.80 (br. s, 1H, OH); 2.60 (dd, J=14.2, 3.6, H-C(3)eq); 2.17, 2.14, 2.05 (3s, je 3H, 3xOAc); 1.95 (s, 3H, NHAc); 1.93 (dd, J=14.2, 2.4, H-C(3)ax).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 170.70, 170.56, 170.46, 170.26 (4s, 3xOAc, NHAc); 168.68 (s, C(1)); 97.47 (s, C(2)); 69.41 (d); 68.77 (d); 68.26 (d); 66.57 (d); 62.46 (t, C(9)); 52.00, 51.64 (2q, CO₂CH₃, OCH₃); 47.47 (d, C(5)); 39.73 (t, C(3)); 23.03 (q, NHAc); 21.02, 20.74, 20.63 (3q, 3xOAc).

CI-MS: 464 (100, [M+1]⁺)

$C_{19}H_{29}NO_{12}$ (463.442) Ber. C 49.24, H 6.31, N 3.02
Gef. C 48.99, H 6.25, N 2.98

Daten von 209:

R_f (AcOEt): 0.07 $[\alpha]_D^{25} = -13.9^\circ$ ($c=1.15$, $CHCl_3$)

IR ($CHCl_3$): 3520m, 3430m, 3030w, 3000m, 2960m, 2840w, 1740s, 1680s, 1605w, 1500s, 1430m, 1370s, 1295s, 1250-1200s br., 1160m, 1130s, 1100s, 1090s, 1040s, 955m, 930w, 875w.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 5.81 (d, $J=10.0$, NH); 5.38 (dd, $J=3.6$, 2.3, H-C(7)); 5.27 (ddd, $J=8.0$, 3.6, 2.5, H-C(8)); 4.86 (dd, 12.4, 2.5, H-C(9)); 4.18 (td, $J=10.5$, 2.9, H-C(5)); 4.10 (dd, $J=12.4$, 8.0, H-C(9')); 4.06 (dd, $J=10.8$, 2.3, H-C(6)); 3.95 (m, 1H, H-C(4)); 3.82 (s, 3H, CO_2CH_3); 3.45 (br. s, 1H, OH); 3.25 (s, 3H, OCH_3); 2.40 (dd, $J=14.8$, 3.1, H-C(3)eq); 2.16, 2.09, 2.03 (3s, je 3H, 3xOAc); 2.01 (dd, $J=14.8$, 3.4, H-C(3)ax); 1.94 (s, 3H, NHAc).

^{13}C -NMR (50 MHz, $CDCl_3$): 170.73, 170.48, 170.06, 169.88 (4s, 3xOAc, NHAc); 166.87 (s, C(1)); 99.09 (s, C(2)); 72.20 (d); 68.88 (d); 68.25 (d); 66.92 (d); 62.40 (t, C(9)); 52.67, 51.65 (2q, CO_2CH_3 , OCH_3); 46.44 (d, C(5)); 36.92 (t, C(3)); 23.12 (q, NHAc); 20.90, 20.69, 20.65 (3q, 3xOAc):

CI-MS: 464 (100, $[M+1]^+$)

$C_{19}H_{29}NO_{12}$ (463.442) Ber. C 49.24, H 6.31, N 3.02
Gef. C 49.05, H 6.27, N 3.12

Methyl-(methyl-7,8,9-tri-O-acetyl-3,4,5-tridesoxy-4,5-dihydro-2'-methyl-oxazolo-[5,4-d]- α -D-glycero-D-talo-2-nonulopyranosid)onat (211)

Zu einer Lösung von **208** (300 mg, 647 μ mol) in CH_2Cl_2 (2 ml) wurde bei $0^\circ C$ Pyridin (105 μ l, 1.29 μ mol), dann Trifluormethansulfonsäureanhydrid (138 μ l, 841 μ mol) tropfenweise zugegeben. Nach 30 Min. bei $0^\circ C$ wurde abfiltriert und das Filtrat wurde bei $0^\circ C$ wässrig ausgeschüttelt. Nach Reinigung mit FC (AcOEt/Hexan,

Gradient 1:1→3:1) erhielt man **211** (176 mg) in einer Ausbeute von 61%.

R_f (AcOEt/Hexan, 3:1): 0.2

$[\alpha]_D^{25} = -17.0^\circ$ ($c=1.88$, CHCl_3)

IR (CHCl_3): 3030w, 2960m, 2840w, 1740s, 1700s, 1660s, 1435m, 1370s, 1250-1200s br., 1140m, 1070s, 1045s, 995m, 970m, 940m, 900w.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): 5.57 (dd, $J=6.2$, 2.2, H-C(7)); 5.40 (td, $J=6.2$, 2.5, H-C(8)); 4.80 (td, $J=9.6$, 6.7, H-C(4)); 4.52 (dd, $J=12.4$, 2.5, H-C(9)); 4.19 (dd, $J=12.4$, 6.2, H-C(9')); 4.06 (ddq, $J=10.5$, 9.6, 1.2, H-C(5)); 3.77 (dd, $J=10.5$, 2.2, H-C(6)); 3.77 (s, 3H, CO_2CH_3); 3.33 (s, 3H, OCH_3); 2.50 (dd, $J=13.8$, 6.7, H-C(3)); 2.15, 2.09, 2.06 (3s, je 3H, 3xOAc); 1.99 (d, $J=1.2$, CH_3 -Oxazolin); das Signal von H-C(3') liegt unter den Acetyl-Signalen.

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): 170.64, 169.82, 169.49, 168.81, 167.30 (5s, 3xOAc, C(1), C=N); 97.65 (s, C(2)); 73.65, 72.55 (2d, C(4), C(6)); 69.89, 69.48 (2d, C(8), C(7)); 63.63 (d, C(5)); 61.96 (t, C(9)); 52.48 (q, CO_2CH_3); 51.07 (q, OCH_3); 32.81 (t, C(3)); 20.77, 20.60, 20.47 (3q, 3xOAc); 13.76 (q, CH_3 -Oxazolin).

CI-MS: 446 (100, $[\text{M} + 1]^+$)

$\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{NO}_{11}$ (445.43)

Ber. C 51.23, H 6.10, N 3.14

Gef. C 51.15, H 6.21, N 3.17

Methyl-(methyl-5-acetamido-7,8,9-tri-O-acetyl-3,5-didesoxy-4-O-methansulfonyl- α -D-glycero-D-talo-2-nonulopyranosid)onat (**213**)

Zu einer Lösung von **208** (600 mg, 1.29 mmol) in abs. CH_2Cl_2 (6 ml) wurde bei 0°C Et_3N (187 μl , 2.59 mmol), dann Methansulfonylchlorid (153 μl , 1.94 mmol) tropfenweise zugegeben (30 Min.) und der Ansatz wurde 3 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde dann mit CH_2Cl_2 (30 ml) verdünnt und mit H_2O (3x50 ml) bei 0°C gewaschen. Nach dem Trocknen mit MgSO_4 , Einengen i.V. und FC (AcOEt/Hexan 2:1) erhielt man **213** (343 mg) in 49% Ausbeute.

R_f (AcOEt): 0.39

$[\alpha]_D^{25} = -33.4^\circ$ ($c=1.12$, CHCl_3)

IR (CHCl₃): 3430w, 3030w, 2990w, 2950w, 2840w, 1745s, 1680s, 1505m, 1435m, 1365s, 1340s, 1250-1200s br., 1170s, 1110s, 1080s, 1040s, 1000m, 970m, 950m, 900s, 850w.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 5.74 (d, J=9.5, NH); 5.48 (ddd, J=8.3, 5.3, 2.6, H-C(8)); 5.38 (dd, J=8.3, 2.3, H-C(7)); 4.99 (q, J=3.0, H-C(4)); 4.45 (dd, J=11.0, 2.3, H-C(6)); 4.35 (dd, J=12.5, 2.6, H-C(9)); 4.26 (ddd, J=11.0, 9.5, 3.0, H-C(5)); 4.12 (dd, J=12.5, 5.3, H-C(9')); 3.81 (s, 3H, CO₂CH₃); 3.28 (s, 3H, OCH₃); 2.99 (s, 3H, OSO₂CH₃); 2.83 (dd, J=14.9, 3.5, H-C(3)eq); 2.19, 2.12, 2.05, 1.95 (4s, je 3H, 3xOAc + NHAc); 2.10 (dd, J=14.9, 2.5, H-C(3)ax).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 170.67, 170.58, 170.22, 169.83, 168.11 (5s, 3xOAc, NHAc, C(1)); 97.13 (s, C(2)); 78.52 (d, C(4)); 69.48 (d, C(6)); 68.30 (d, C(8)); 67.38 (d, C(7)); 62.23 (t, C(9)); 52.51, 51.93 (2q, CO₂CH₃, OCH₃); 45.76 (d, C(5)); 37.68 (t, C(3)); 37.57 (q, OSO₂CH₃); 22.71 (q, NHAc); 21.06, 20.64, 20.58 (3q, 3xOAc).

CI-MS: 542 (85, [M+1]⁺), 510 (16, [M+1]⁺-CH₃OH), 482 (25), 446 (52, [M+1]⁺-CH₃SO₃H), 414 (100, [M+1]⁺-CH₃OH-CH₃SO₃H).

C₂₀H₃₁NO₁₄S (541.533)

Ber. C 44.36, H 5.77, N 2.59

Gef. C 44.23, H 5.85, N 2.40

7. Stereoselektive Synthese von β -Glycosiden der N-Acetylneuraminsäure

Methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3-brom-2,3,5-tridesoxy- β -D-erythro-L-manno-2-nonulopyranosylbromid)onat (45)

Bei RT und unter Argon wurde Br_2 (200 μl , 3.9 mmol) zu einer Lösung von **126** (1.00 g, 2.11 mmol) in abs. CHCl_3 (8 ml) und abs. AcOEt (2 ml) langsam zugetropft. Nach 30 Min. wurde der Ansatz i.V. eingeeengt und der Rückstand wurde mit FC (AcOEt /Hexan 5:1) gereinigt. Nach Kristallisation aus CHCl_3 /petrolether erhielt man reines **45** (1.19 g, 89%).

Smp. 136-137°C

R_f (AcOEt): 0.50

$[\alpha]_D^{25} = -56.9^\circ$ ($c=1.05$, CHCl_3)

IR (CHCl_3): 3420m, 3360w br., 3030m, 3000m, 2950m, 1745s br., 1690s, 1500m, 1435m, 1365s, 1295s, 1220s br., 1125m, 1090m, 1045s, 985m, 940m, 910w, 850w.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 5.77 (dd, $J=10.2$, 3.5, H-C(4)); 5.43 (dd, $J=7.3$, 1.7, H-C(7)); 5.39 (d, $J=8.8$, NH); 5.26 (ddd, $J=7.3$, 5.5, 2.7, H-C(8)); 5.05 (d, $J=3.5$, H-C(3)); 4.48 (m, 2H, H-C(5), H-C(6)); 4.44 (dd, $J=12.6$, 2.7, H-C(9)); 4.14 (dd, $J=12.6$, 5.5, H-C(9')); 3.91 (s, 3H, CO_2CH_3); 2.16, 2.11, 2.08, 2.05, 1.96 (5s, 3H, 4xOAc, NHAc).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C_6D_6): 5.59 (ddd, $J=6.6$, 5.8, 2.5, H-C(8)); 5.55 (dd, $J=6.6$, 2.3, H-C(7)); 5.54 (dd, $J=10.5$, 3.4, H-C(4)); 5.09 (d, $J=3.4$, H-C(3)); 5.02 (q, $J=10.4$, H-C(5)); 4.80 (dd, $J=12.5$, 2.5, H-C(9)); 4.28 (dd, $J=12.5$, 5.8, H-C(9')); 4.28 (dd, $J=10.8$, 2.3, H-C(6)); 4.12 (d, $J=10.3$, NH); 3.38 (s, 3H, CO_2CH_3); 1.87, 1.86, 1.73, 1.58, 1.53 (5s, 3H, 4xOAc, NHAc).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): 170.55, 170.35, 170.22, 170.11, 169.68 (5s, 4xOAc + NHAc); 163.94 (s, C(1)); 91.71 (s, C(2)); 76.05 (d, C(6)); 69.91 (d, C(8)); 68.64 (d, C(4)); 66.92 (d, C(7)); 62.00 (t, C(9)); 53.84 (q, CO_2CH_3); 52.93 (d, C(3)); 45.21 (d, C(5)); 23.13 (q, NHAc); 20.95, 20.70, 20.66, 20.62 (4q, 4xOAc).

CI-MS: 636, 634, 632 ($[\text{M}+1]^+$), 414 (100, $[\text{M}+1]^+ - 2\text{HBr} - \text{HOAc}$).

C₂₀H₂₇Br₂NO₁₂ (633.25)

Ber. C 37.93, H 4.29, N 2.21, Br 25.24

Gef. C 37.97, H 4.25, N 2.40, Br 25.40

Methyl 2,4,6-tri-O-benzyl-3-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3-brom-3,5-didesoxy-β-D-erythro-L-manno-2-nonulopyranosyl)onat]-β-D-galactopyranosid (219) und Methyl-(3,7,8,9-tetra-O-acetyl-2,4,5-tri-desoxy-4,5-dihydro-2'-methyl-oxazolo-[5,4-d]-α-D-erythro-L-altro-2-nonulopyranosylbromid)onat (212)

Methyl 2,4,6-tri-O-benzyl-β-D-galactopyranosid **136** (550 mg, 1.18 mmol) [190] und Silber-trifluormethansulfonat (AgOTf, 406 mg, 1.58 mmol) wurden in abs. 1,2-Dichloräthan (2 ml) gelöst und Molekularsieb 4Å (Pulver) wurde zugegeben. Eine Lösung von **45** (500 mg, 789 μmol) in 1 ml 1,2-Dichloräthan wurde dann tropfenweise unter Argon zugesetzt und der Ansatz wurde anschl. 24 h bei RT gerührt. Nach Abfiltrieren über Celite und Einengen i.V. wurden die Produkte mit FC (AcOEt/Hexan, Gradient: 1:1→3:1) getrennt. Man erhielt **219** (380 mg, 48%) und **212** (78 mg, 18%).

Daten von 219:

R_f (AcOEt/Hexan 3:1): 0.34

[α]_D²⁵ = +40.0° (c=1.34, CHCl₃)

IR (CHCl₃): 3440w, 3000-2840w, 1735s, 1685m, 1600w, 1490w, 1435w, 1365m, 1300m, 1250-1200s br., 1100-1020s br., 940w, 900w.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.49-7.26 (m, 15H, Phenyl); 5.25 (dd, J=12.3, 2.2, H-C(9)); 5.19 (dt, J=9.0, 2.2, H-C(8)); 5.09 (t, J=2.2, H-C(7)); 5.05 (dd, J=10.8, 3.5, H-C(4)); 4.92 + 4.83 (2d, J=13.6, AB, Benzyl); 4.87 + 4.75 (2d, J=11.5, AB, Benzyl); 4.73 (d, J=3.5, H-C(3)); 4.58 (s, 2H, Benzyl); 4.52 (q, J=10.6, H-C(5)); 4.33 (d, J=7.3, H-C(1)gal); 4.03 (dd, J=12.3, 9.0, H-C(9')); 4.02 (d, J=3.0, H-C(4)gal); 3.88 (dd, J=9.5, 3.0, H-C(3)gal); 3.87 (dd, J=10.8, 2.2, H-C(6)); 3.83 (t, J=6.5, H-C(5)gal); 3.77 (dd, J=9.5, 7.3, H-C(2)gal); 3.73 (m, 2H-C(6)gal); 3.54 (s, CO₂CH₃); 3.51 (d, J=10.6, NH); 3.49 (s, OCH₃); 2.08, 2.05, 2.04, 1.98 (4s, 3H, 4xOAc); 1.59 (s, 3H, NHAc).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 170.84, 170.49, 170.06, 169.96, 169.69 (5s, 4xOAc, NHAc); 165.03 (s, C(1)); 139.75, 138.56, 137.71 (3s, Phenyl); 128.67-125.95 (9d, Phenyl); 104.52 (d, C(1)gal); 101.35 (s, C(2)); 78.58, 78.19, 78.23, 73.38 (4d,

C(2)gal, C(3)gal, C(4)gal, C(5)gal); 74.71, 73.48, 73.38 (3t, Benzyl); 73.14 (d, C(4)); 72.75 (d, C(6)); 68.79 (t, C(6)gal); 68.39 (d, C(8)); 68.35 (d, C(7)); 62.51 (t, C(9)); 56.99 (q, OCH₃); 52.56 (q, CO₂CH₃); 51.77 (d, C(3)); 44.23 (d, C(5)); 22.84 (q, NHAc); 20.91, 20.72, 20.65, 20.53 (4q, 4xOAc).

C₄₄H₅₈BrNO₁₈ (1016.90)

Ber. C 56.69, H 5.75, Br 7.86, N 1.38

Gef. C 56.75, H 5.83, Br 7.72, N 1.25

Daten von 212:

R_f (AcOEt/Hexan 3:1): 0.25

$[\alpha]_D^{25} = +50.1^\circ$ (c=1.07, CHCl₃)

IR (CHCl₃): 3030w, 2990w, 2960w, 2850w, 1745s, 1670m, 1600w, 1430m, 1370s, 1290s, 1250-1200s br., 1135s, 1100s, 1075s, 1035s, 945m, 935m.

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 5.52 (ddd, J=6.0, 2.3, H-C(7)); 5.35 (td, J=6.0, 2.5, H-C(8)); 4.92 (t, J=9.6, H-C(4)); 4.46 (dd, J=12.6, 2.5, H-C(9)); 4.27 (d, J=9.6, H-C(3)); 4.21 (ddq, J=11.0, 9.6, 1.2, H-C(5)); 4.18 (dd, J=12.6, 6.0, H-C(9')); 3.96 (dd, J=11.0, 2.3, H-C(6)); 3.82 (s, CO₂CH₃); 2.14, 2.11, 2.08, 2.04 (4s, 4xOAc); 2.05 (d, J=1.2, CH₃-Oxazolin).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 170.48, 169.74, 169.48, 166.94, 166.25, 165.61 (6s, 4xOAc, C(1), C=N); 96.12 (s, C(2)); 79.72 (d, C(4)); 72.80 (d, C(6)); 69.85 (d, C(8)); 68.89 (d, C(7)); 65.04 (d, C(3)); 61.62 (t, C(9)); 53.28 (q, CO₂CH₃); 45.63 (d, C(5)); 20.95, 20.78, 20.65, 20.44 (4q, 4xOAc); 13.92 (q, CH₃-Oxazolin).

CI-MS: 552 + 554 ([M+1]⁺)

C₂₀H₂₆BrNO₁₂ (552.34)

Ber. C 43.49, H 4.74, Br 14.47; N 2.54

Gef. C 43.40, H 4.79; Br 14.57, N 2.63

Methyl 2,4,6-tri-O-benzyl-3-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-didesoxy- β -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]- β -D-galactopyranosid (220)

Unter Argon wurden nacheinander Bu_3SnH (94 μl , 354 μmol) und AIBN (19 mg, 11.5 μmol) zu einer entgasten Lösung von **219** (240 mg, 236 μmol) in abs. Toluol (2 ml) bei 100°C zugegeben. Nach 15 Min. wurde abgekühlt und i.V. eingeeengt. Der Rückstand wurde mit FC (AcOEt/Hexan, Gradient: 1:1 $\rightarrow$ 3:1) gereinigt. Man erhielt **220** (212.5 mg) in 96% Ausbeute.

R_f (AcOEt/Hexan 3:1): 0.27

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +5.5^\circ$ ($c=1.39$, CHCl_3)

IR (CHCl_3): 3390w, 3030w, 3000w, 2860w, 2820w, 1740s, 1680m, 1370m, 1260-1190m, 1100s, 1070s, 1030s, 990m.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.47-7.30 (m, 15H, Phenyl); 5.16 (m, 2H, H-C(7), H-C(8)); 4.99 (dd, $J=12.3$, 1.9, H-C(9)); 4.98 (td, $J=10.8$, 4.8, H-C(4)); 4.89 + 4.68 (2d, $J=11.1$, 2H-Benzyl); 4.80 + 4.56 (2s, 4H, Benzyl); 4.35 (d, $J=7.5$, H-C(1)gal); 4.09 (dd, $J=10.0$, 2.9, H-C(3)gal); 4.00 (dd, $J=12.3$, 8.5, H-C(9')); 3.97 (q, $J=10.0$, H-C(5)); 3.94 (d, $J=2.9$, H-C(4)gal); 3.90 (dd, $J=10.0$, 2.0, H-C(6)); 3.83 (d, $J=10.0$, NH); 3.77 (t, $J=6.5$, H-C(5)gal); 3.75 (dd, $J=10.0$, 7.5, H-C(2)gal); 3.73-3.68 (m, 2H, 2H-C(6)gal); 3.55 (s, 3H, CO_2CH_3); 3.46 (s, 3H, OCH_3); 2.71 (dd, $J=13.7$, 4.8, H-C(3)eq); 2.06, 2.04, 2.01, 1.99 (4s, je 3H, 4xOAc); 1.80 (dd, $J=13.7$, 11.6, H-C(3)ax); 1.64 (s, 3H, NHAc).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): 170.44, 170.38, 169.98, 169.91, 167.04 (6s, 4xOAc, NHAc, C(1)); 139.34, 138.63, 137.83 (3s, Benzyl); 128.52-126.70 (9s, Benzyl); 104.91 (d, C(1)gal); 99.34 (s, C(2)); 77.64, 77.48, 76.36, 73.31 (4d, C(2)gal, C(3)gal, C(4)gal, C(5)gal); 74.67, 73.92, 73.31 (3t, Benzyl); 72.62 (d, C(4)); 71.75 (d, C(6)); 68.59 (t, C(6)gal); 68.54 (d, C(8)); 68.21 (d, C(7)); 62.36 (t, C(9)); 56.93 (q, OCH_3); 52.38 (q, CO_2CH_3); 48.04 (d, C(5)); 36.39 (t, C(3)); 22.88 (q, NHAc); 20.92, 20.78, 20.70, 20.62 (4q, 4xOAc).

$\text{C}_{48}\text{H}_{59}\text{NO}_{18}$ (938.00)

Ber. C 61.46, H 6.34, N 1.49

Gef. C 61.29, H 6.45, N 1.40

Benzyl-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3-brom-3,5-didesoxy- β -D-erythro-L-manno-2-nonulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 3)-O-(2,6-di-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- β -D-glucopyranosid (223) und Benzyl-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3-brom-3,5-didesoxy- β -D-erythro-L-manno-2-nonulopyranosyl)onat]-(2 $\rightarrow$ 4)-O-(2,6-di-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- β -D-glucopyranosid (224)

Zu einer Lösung von **45** (500 mg, 789 μ mol) und **137** (1.05 g, 1.18 mmol) [192] in abs. 1,2-Dichloräthan (4 ml) wurde Molekularsieb 4Å (Pulver, 500 mg) zugegeben. Nach 30 Min. wurde bei RT, unter Argon und unter Ausschluss von Licht AgOTf (406 mg, 1.58 mmol) in mehreren Portionen zugesetzt und das Gemisch wurde 24 h gerührt. Danach wurde über Celite abfiltriert und i.V. eingengt. Die drei Produkte wurden mit FC (Toluol/AcOEt, Gradient: 3:1 $\rightarrow$ 1:1) getrennt. Man erhielt **223** (420 mg, 37.1%), **224** (212 mg, 18.7%) und **212** (65 mg, 15%).

Daten von **223**:

R_f (AcOEt/Toluol 1:1): 0.20

$[\alpha]_D^{25} = +20.3^\circ$ ($c=1.79$, CHCl_3)

IR (CHCl_3): 3500w, 3430w, 3070w, 3030w, 3000w, 2920w, 2880w, 1740s, 1680m, 1605w, 1500w, 1450w, 1365m, 1300m, 1240-1200m br., 1120s, 1090s, 1050s, 990m, 940w, 910w.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): 7.40-7.20 (m, 30H, Phenyl); 5.59 (dd, $J=10.5$, 3.4, H-C(4)); 5.58 (d, $J=9.4$, NH); 5.36 (t, $J=2.1$, H-C(7)); 5.27 (dt, $J=8.8$, 2.1, H-C(8)); 5.10 (dd, $J=12.4$, 2.1, H-C(9)); 4.97 + 4.75 (2d, AB, $J=11.0$, 2H-Benzyl); 4.94 + 4.65 (2d, AB, $J=12.0$, 2H-Benzyl); 4.89 + 4.70 (2d, AB, $J=11.0$, 2H-Benzyl); 4.79 + 4.69 (2d, AB, $J=11.5$, 2H-Benzyl); 4.77 (dd, $J=10.7$, 2.1, H-C(6)); 4.68 (d, $J=3.4$, H-C(3)); 4.54 + 4.44 (2d, AB, $J=12.0$, 2H-Benzyl); 4.47 (2d, $J=7.5$, H-C(1)gal, H-C(1)glc); 4.44 + 4.39 (2d, AB, $J=12.0$, 2H-Benzyl); 4.34 (q, $J=10.5$, H-C(5)); 4.13 (dd, $J=12.4$, 8.8, H-C(9')); 4.10 (m, H-C(4)gal); 3.98 (t, $J=9.0$, H-C(4)glc); 3.78-3.30 (m, 11H, H-glc, H-gal); 3.61 (s, 3H, CO_2CH_3); 2.17, 2.08, 2.03, 1.92, 1.90 (5s, je 3H, 4xOAc, NHAc).

$^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3): 179.78, 170.48, 170.44, 170.28, 170.16, 164.70 (6s); 139.11, 138.49, 138.41, 138.26, 137.82, 137.41 (6s); 128.26 - 127.09 (18d); 102.36 (d); 102.07 (d); 101.39 (s); 82.77 (d); 81.69 (d); 81.10 (d); 77.87 (d); 76.37 (d); 75.39

(d); 75.08 (t); 74.95 (d); 74.85 (t); 73.36 (t); 73.02 (t); 72.80 (d); 72.37 (d); 72.15 (d); 70.87 (t); 69.63 (d); 69.48 (t); 69.07 (d); 68.29 (t); 68.04 (d); 62.74 (t); 52.72 (q); 52.32 (d); 45.99 (d); 23.21 (q); 20.91, 20.74, 20.64 (4q).

$C_{74}H_{84}BrNO_{23}$ (1435.39)

Ber. C 61.92, H 5.89, Br 5.56, N 0.97

Gef. C 61.79, H 6.08, Br 5.62, N 0.72

Daten von 224:

R_f (Toluol/AcOEt 1:1): 0.37

$[\alpha]_D^{25} = -4.6^\circ$ (c=1.31, $CHCl_3$)

IR ($CHCl_3$): 3500w, 3400w, 3070w, 3040w, 3000w, 2930w, 2870w, 1745s, 1690m, 1605w, 1520w, 1455m, 1370m, 1300m, 1240-1200m, 1175m, 1130m, 1090s, 1060s, 990m, 910w.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 7.40-7.20 (m, 30H, Benzyl); 5.47 (ddd, $J=8.8, 3.5, 2.5$, H-C(8)); 5.26 (dd, $J=10.6, 3.4$, H-C(4)); 5.20 (dd, $J=12.5, 2.5$, H-C(9)); 5.04 (dd, $J=3.5, 2.2$, H-C(7)); 5.00-4.40 (6xAB, 12H, Benzyl); 4.56 (q, $J=10.5$, H-C(5)); 4.47 (d, $J=3.4$, H-C(3)); 4.36 (dd, $J=10.5, 2.2$, H-C(6)); 4.28 (d, $J=10.4$, NH); 4.02-3.90 (m, 4H, H-gal, H-glc); 3.98 (dd, $J=12.5, 8.8$, H-C(9')); 3.81-3.79 (m, 2H, H-gal, H-glc); 3.73 (s, 3H, CO_2CH_3); 3.60-3.36 (m, 8H, H-gal, H-glc); 2.12, 2.11, 2.07, 2.05 (4s, je 3H, 4xOAc); 1.32 (s, 3H, NHAc).

^{13}C -NMR (50MHz, $CDCl_3$): 171.97, 170.70, 170.44, 169.84, 169.65, 166.66 (6s); 139.21, 138.73, 138.40, 137.64, 137.39 (6s); 128.95-126.62 (18d); 103.04, 102.34 (2d); 99.94 (s); 82.74 (d); 81.82 (d); 77.70 (d); 78.37 (d); 77.34 (d); 75.26 (t); 74.88 (2t, d); 74.54 (d); 73.52 (d); 73.03 (t); 72.92 (t); 71.12 (d); 70.93 (t); 70.46 (d); 68.45 (t); 68.39 (d); 68.21 (d); 67.99 (t); 63.26 (t); 52.26 (q); 52.15 (d); 44.69 (d); 22.48, 21.00, 20.91, 20.58 (5q).

$C_{74}H_{84}BrNO_{23}$ (1435.39)

Ber. C 61.92, H 5.89, Br 5.56, N 0.97

Gef. C 61.83, H 6.01, Br 5.68, N 0.69

Benzyl-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-dideoxy-β-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]-(2→3)-O-(2,6-di-O-benzyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-2,3,6-tri-O-benzyl-β-D-glucopyranosid (225)

Zu einer entgasten Lösung von **223** (420 mg, 292 μmol) in abs. Toluol (4 ml) wurde unter Argon und bei 90°C Bu₃SnH (116 μl, 439 μmol) und dann AIBN (3 mg, 15 μmol) zugegeben. Nach 30 Min. wurde die Lösung abgekühlt und i.V. eingengt. FC (Toluol/AcOEt, Gradient 10:1→1:1) ergab **225** (381 mg) in 96% Ausbeute.

R_f (AcOEt/Toluol 1:1): 0.12

[α]_D²⁵ = -3.1° (c=1.67, CHCl₃)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.40 - 7.25 (m, 30H, Phenyl); 5.27 (dd, J=3.9, 2.8, H-C(7)); 5.20 (m, 2H, H-C(4), H-C(8)); 4.97 + 4.77 (2d, AB, J=11.0, 2H-Benzyl); 4.93 + 4.87 (2d, AB, J=12.0, 2H-Benzyl); 4.90 + 4.71 (2d, J=11.0, 2H-Benzyl); 4.82 (d, J=10.6, NH); 4.80 (dd, J=12.4, 1.5, H-C(9)); 4.66 + 4.64 (2d, AB, J=11.0, 2H-Benzyl); 4.61 + 4.56 (2d, AB, J=12.0, 2H-Benzyl); 4.56 (d, J=7.0, H-C(1)gal); 4.47 (d, J=7.6, H-C(1)glc); 4.45 + 4.40 (2d, AB, J=12.0, 2H-Benzyl); 4.34 (dd, J=10.6, 2.8, H-C(6)); 4.09 (q, J=10.6, H-C(5)); 4.05 (t, J=9.0, H-C(4)glc); 4.01 (dd, J=12.4, 7.9, H-C(9')); 3.91 (br. d, J=3.0, H-C(4)gal); 3.83 (m, 2H-C(6)glc); 3.81 (dd, J=10.0, 3.0, H-C(3)gal); 3.64 (s, 3H, CO₂CH₃); 3.64 (m, 2H, H-C(2)gal, H-C(6)gal); 3.58 (t, J=8.9, H-C(3)glc); 3.54 (dd, J=10.0, 5.0, H-C(6')); 3.49 (dd, J=8.9, 7.6, H-C(2)glc); 3.42 (t, J=5.5, H-C(5)gal); 3.38 (dt, J=9.0, 2.8, H-C(5)glc); 2.55 (dd, J=13.6, 4.5, H-C(3)eq); 2.10, 2.09, 1.99, 1.97, 1.75(5s, je 3H, 4xOAc, NHAc); 2.01 (dd, J=13.6, 10.1, H-C(3)ax)).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 170.65, 170.51, 170.44, 170.12, 167.33 (6s); 138.93, 138.42, 138.39, 138.29, 137.93, 137.37 (6s); 128.23 - 127.13 (18d); 102.33 (d); 102.26 (d); 99.39 (s); 82.50 (d); 81.68 (d); 78.22 (d); 77.76 (d); 76.15 (d); 75.26 (t); 75.08 (t); 74.96 (d); 74.84 (t); 73.31 (t); 72.94 (t); 72.38 (d); 71.85 (2d); 70.85 (t); 68.86 (t); 68.69 (d); 68.54 (d); 68.27 (d + t); 62.56 (t); 52.75 (q); 48.58 (d); 35.96 (t); 22.89 (q); 20.94, 20.75, 20.61 (4q).

C₇₄H₈₅NO₂₃ (1'356.49)

Ber. C 65.52, H 6.32, N 1.03

Gef. C 65.29, H 6.45, N 0.92

Benzyl-O-[5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-2'',4':1'',3'-anhydro-3,5-didesoxy- β -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosonsäure]-(2 $\rightarrow$ 4)-O-(2,6-di-O-benzyl- β -D-galactopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- β -D-glucopyranosid (226)

Zu einer entgasten Lösung von **224** (212 mg, 147 μ mol) in abs. Toluol (4 ml) wurde unter Argon und bei 90°C Bu₃SnH (64 μ l, 221 μ mol) und dann AIBN (1.1 mg, 7 μ mol) zugegeben. Nach 30 Min. wurde die Lösung abgekühlt und i.V. eingengt. FC (Toluol/AcOEt, Gradient 10:1 $\rightarrow$ 1:1) ergab **226** (185 mg) in 95% Ausbeute.

R_f (AcOEt/Toluol 1:1): 0.19

$[\alpha]_D^{25} = +3.2^\circ$ (c=1.67, CHCl₃)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.40 - 7.25 (m, 30H, Phenyl); 5.26 (t, J=2.2, H-C(7)); 5.21 (dt, J=9.4, 2.2, H-C(8)); 5.06 (ddd, J=11.9, 9.4, 5.0, H-C(4)); 4.96 + 4.89 (2d, AB, J=12.0, 2H-Benzyl); 4.92 (d, J=10.0, NH); 4.92 (dd, J=12.4, 2.2, H-C(9)); 4.76 + 4.67 (2d, AB, J=12.0, 2H-Benzyl); 4.74 (s, 2H, Benzyl); 4.72 + 4.69 (2d, AB, J=11.0, 2H-Benzyl); 4.72 (dd, J=3.7, 1.5, H-C(4)gal); 4.63 + 4.38 (2d, AB, J=12.0, 2H-Benzyl); 4.57 + 4.39 (2d, AB, J=12.5, 2H-Benzyl); 4.50 (d, J=7.5, H-C(1)glc); 4.45 (dd, J=9.4, 3.7, H-C(3)gal); 4.41 (d, J=7.8, H-C(1)gal); 4.12 (q, J=10.0, H-C(5)); 4.07 (dd, J=10.4, 2.2, H-C(6)); 3.95 (dd, J=9.7, 9.0, H-C(4)glc); 3.84 (dd, J=11.0, 3.9, H-C(6)glc); 3.81 (dd, J=12.4, 9.4, H-C(9')); 3.70 (dd, J=9.7, 9.0, H-C(6)gal); 3.69 (dd, J=11.0, 1.7, H-C(6')glc); 3.56 (ddd, J=9.0, 5.4, 1.5, H-C(5)gal); 3.55 (t, J=9.0, H-C(3)glc); 3.50 (dd, J=9.0, 7.5, H-C(2)glc); 3.48 (dd, J=9.4, 7.8, H-C(2)gal); 3.38 (dd, J=9.7, 5.4, H-C(6')gal); 3.35 (ddd, J=9.7, 3.9, 1.7, H-C(5)glc); 2.51 (dd, J=13.0, 11.9, H-C(3)ax); 2.08 (dd, J=13.0, 5.0, H-C(3)eq); 2.13, 2.04, 2.03, 2.00 (4s, je 3H, 4xOAc); 1.84 (s, 3H, NHAc).

¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃): 170.72, 170.61, 170.36, 170.13, 162.19 (6s); 138.81, 138.32, 137.94, 137.39, 137.30 (6s); 128.85 - 126.80 (18d); 102.33, 101.86 (2d); 96.75 (s); 82.70 (d); 81.58 (d); 81.01 (d); 78.83 (d); 77.00 (d); 75.23 (t); 75.13 (t); 74.89 (t); 74.77 (d); 73.37 (t); 73.19 (t); 72.28 (d); 71.79 (d); 70.88 (t); 70.31 (d); 68.61 (d); 68.18 (d); 67.67 ((t); 66.59 (t); 49.17 (d); 35.75 (t); 22.93 (q); 20.87, 20.71, 20.62 (4q).

C₇₃H₈₁NO₂₂ (1'324.45)

Ber. C 66.20, H 6.16, N 1.06

Gef. C 66.35, H 6.22, N 0.89

Benzyl-O-[methyl-(5-acetamido-4,7,8,9-tetra-O-acetyl-3,5-didesoxy-β-D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosyl)onat]-(2→3)-O-(4-O-acetyl-2,6-di-O-benzyl-β-D-galactopyranosyl)-(1→4)-2,3,6-tri-O-benzyl-β-D-glucopyranosid (227)

Verbindung **225** (50 mg, 36.8 μmol) wurde mit Ac₂O (500 μl) und Pyridin (500 μl) bei 80°C 24 h acetyliert. Nach dem Eindampfen i.V. und FC (AcOEt/Toluol 1:1) erhielt man **227** (38 mg, 74%) als weissen Schaum.

Rf (AcOEt/Toluol 1:1): 0.10

$[\alpha]_D^{25} = -8.6^\circ$ (c=3.56, CHCl₃)

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): 7.40-7.15 (m, 30H, Phenyl); 5.77 (d, J=10.2, NH); 5.41 (t, J=2.5, H-C(7)); 5.36 (dm, J=3.0, H-C(4)gal); 5.29 (dt, J=9.1, 2.5, H-C(8)); 5.07 (ddd, J=10.5, 10.3, 4.7, H-C(4)); 5.06 (dd, J=12.2, 2.5, H-C(9)); 4.96 + 4.72 (2d, AB, J=10.5, 2H-Benzyl); 4.93 + 4.65 (2d, AB, J=12.0, 2H-Benzyl); 4.89 + 4.71 (2d, AB, J=11.0, 2H-Benzyl); 4.67 (dd, J=10.5, 2.5, H-C(6)); 4.66 (Teil von AB, J=11.0, H-Benzyl); 4.59 (m, 3H-Benzyl); 4.59 (d, J=8.0, H-C(1)gal); 4.58 (dd, J=10.0, 3.0, H-C(3)gal); 4.53 + 4.31 (2d, AB, J=12.5, 2H-Benzyl); 4.43 (d, J=7.4, H-C(1)glc); 4.09 (q, J=10.5, H-C(5)); 4.05 (dd, J=10.0, 8.8, H-C(4)glc); 3.93 (dd, J=12.2, 9.1, H-C(9')); 3.88 (tm, J=6.6, H-C(5)gal); 3.76-3.69 (m, 2H-C(6)glc); 3.51 (t, J=8.8, H-C(3)glc); 3.50 (dd, J=10.0, 8.0, H-C(2)gal); 3.46 (s, 3H, CO₂CH₃); 3.46 (dd, J=8.8, 7.4, H-C(2)glc); 3.42-3.35 (m, 2H-C(6)gal); 3.20 (dm, J=10.0, H-C(5)glc); 2.58 (dd, J=13.4, 4.7, H-C(3)eq); 2.14, 2.11, 1.99, 1.94, 1.83 (6s, je 3H, 5xOAc, NHAc); 1.85 (dd, J=13.4, 10.3, H-C(3)ax).

C₇₆H₈₇NO₂₄ (1398.54)

Ber. C 65.27, H 6.27, N 1.00

Gef. C 65.13, H 6.32, N 1.03

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde die Synthese der N-Acetylneuraminsäure **2** nach Kuhn und Baschang [37] modifiziert und optimiert. Ausgehend von **2** wurden die Neu5Ac-Analogen 4-*epi*-Neu5Ac **102** und 4-Desoxy-Neu5Ac **109** durch Umwandlung von funktionellen Gruppen hergestellt. Zur Synthese der 4-Desoxy-4-fluor-Neu5Ac **198** wurden Fluorierungsversuche an C(4) von Neu5Ac **2** durchgeführt. Die stereoselektive reduktive C(3)-Deuterierung der 3-Desoxy-3-Brom-Sialinsäuren **131**, **132**, **145** und **146** wurde beschrieben. Die Grundlagen für eine stereoselektive Synthese von β -D-Glycosiden von Sialinsäuren wurden ausgearbeitet.

Die Aldolkondensation des 4,6-O-Isopropyliden-N-Acetyl-D-Glucosamins **122** mit dem Kalium-Salz des Oxalessigsäure-di-*tert.*-butylesters **9** (Schema 16) ergab nach einer sauren Aufarbeitung und Decarboxylierung direkt Neu5Ac **2**. Der Einsatz von **122** erhöht im Vergleich zu [37] die Ausbeute von **2** auf 39% (vgl. 30% nach [37]) und verkürzt - aufgrund der leichten Abspaltbarkeit der Isopropyliden-Schutzgruppe unter den Aufarbeitungsbedingungen - die Synthese von **2** nach [37] um einen Syntheseschritt.

Für die Synthesen der 4-*epi*-Neu5Ac **102** und 4-Desoxy-Neu5Ac **109** stellt das Oxazolin **116** ein gemeinsames zentrales Zwischenprodukt dar. Die Überführung von **2** in das Oxazolin **116** via die 2,3-Dehydro-Neu5Ac **126** gelang in Gegenwart der Lewissäure TMSOTf (Schema 17).

Die Synthese der 4-*epi*-Neu5Ac **102** beruht auf einer selektiven Hydrolyse des Oxazolinringes in **116** zu 2,3-Dehydro-4-*epi*-Neu5Ac **141** und einer Umfunktionalisierung der olefinischen Doppelbindung unter Ausbildung der Glycoside **147/148**: Die Umsetzung von **116** mit $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}/\text{H}_2\text{O}$ lieferte die isomeren Acetate **138-140** (Schema 19), die durch Acetylierung in das einheitliche Acetat **141** übergeführt wurden. Ein Reaktionsmechanismus für die Bildung von **138-140** wurde vorgeschlagen (Schema 20). Die Überführung des Neu5Ac-Glycols **141** in

die Methylglycoside **147/148** gelang durch Bromalkoxylierung (NBS, MeOH) von **141** zu den Bromiden **145**, resp. **146** gefolgt von reduktiver Debromierung (Bu_3SnH , AIBN) zu **147**, resp. **148**. Die Entfernung der Schutzgruppen in **147/148** lieferte **102**.

Die Synthese der 4-Desoxy-Neu5Ac **109** basiert auf einer säurekatalysierten Addition von Hydroxyverbindungen am C(2) des Oxazolins **116**. Die Additionen verlaufen unter kinetischer Kontrolle bevorzugt zu β -D-konfigurierten Glycosiden wie **170** (Schema 25). Kat. Hydrierung ($\text{H}_2/\text{Pd-C}$) von **170** ergab das 4-Desoxy-Neu5Ac-Glycosid **182** und als Nebenprodukt das 2-Desoxy-Derivat **183**. Die Bildung von **183** wurde diskutiert. Deacetylierung und saure Hydrolyse des Isopropylglycosid **187** führte zur 4-Desoxy-Neu5Ac **109**. In Abhängigkeit von der Hydrolysedauer wurde die Entstehung der 2,7-Anhydroverbindung **188** beobachtet.

Bei der Bromalkoxylierung (NBS, MeOH) der Neu5Ac-Glycale **126** und **141** werden die epimeren 3-Brom-Neu5Ac-Glycoside **131/132** und **145/146** gebildet. Die reduktive Debromierung mit Bu_3SnH /AIBN führte unabhängig von der Konfiguration an C(3) bevorzugt zu den an C(3) axial substituierten 3-Deutero-Neu5Ac-Derivaten (Schema 22). Die beobachtete Stereoselektivität wurde mit Hilfe von sterischen und stereoelektronischen Effekten in den intermediär gebildeten Radikalen erklärt.

Zur Synthese der 4-Desoxy-4-fluor-Neu5Ac **198** wurde die Fluorierung an C(4) von **138**, **193** und **208** untersucht. Die Umsetzung von **138** mit DAST ergab das Glycosylfluorid **199**, das 4-Desoxy-4-*epi*-Fluoroglycal **200** und das Oxazolin **116** (Schema 29). Die Entstehung dieser Produkte wurde mit einer stereokontrollierten F^- -Addition an C(2), resp. C(4) der Katione **178/179** erklärt. Die Umsetzungen von **193** mit DAST, resp. vom Mesylat **213** mit CsF/TBAF ergaben keine fluoriierten Produkte. Die Triflierung von **208** mit $\text{TiF}_2\text{O/Pyridin}$ führte zum Oxazolin **211** (Schema 33). Die Bildung von **211** wurde unter der Annahme einer zweifachen nucleophilen Substitution an C(4) rationalisiert (Schema 34).

Glycosidierungen von Neu5Ac **2** verlaufen aufgrund von fehlenden (stereodirigierenden) C(3)-Substituenten in **2** mit nur geringer Stereoselektivität. Die Bromierung des Glycals **126** ergab das an C(3) axial substituierte Dibromid **45** (Schema 36). Verbindung **45** wurde als ein neuer Glycosylacceptor untersucht: Unter Königs-Knorr-Bedingungen führte **45** in Gegenwart von Hydroxyverbindungen wie **135**, resp. **136** stereoselektiv zu den β -D-Glycosiden **219**, **223** und **224**. Reduktive

Debromierung ergab das Disaccharid **220** und die Trisaccharide **225** und **226**. Die Konfiguration an C(2) der Glycoside **220**, **225** und **226** wurde anhand der für α - und β -D-Neu5Ac-Glycoside charakteristischen $J_{7,8}$ -Kopplungskonstante bestimmt. Die β -Stereoselektivität wird mit der Nachbargruppenaktivität des axialen C(3)-Brom-Substituenten begründet. Unter den Glycosidierungsbedingungen wurde **45** in einer Nebenreaktion in das Oxazolin **212** übergeführt (Schema 36). Die Struktur von **212** konnte aufgrund der spektroskop. Daten eindeutig aufgeklärt werden.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] R. Schauer, Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. **1982**, *40*, 131.
- [2] A.P. Corfield, R. Schauer, in 'Sialic Acids: Chemistry, Metabolism and Function' (Cell Biology Monograph), Ed. R. Schauer, Springer, Wien, New York, **1982**, Vol. 10, pp 5.
- [3] J. Montreuil, Pure Appl. Chem. **1984**, *56*, 859.
- [4] J.M. Jancik, R. Schauer, K.H. Andres, M. von Dürig, Cell Tissue Res. **1978**, *186*, 209.
- [5] a) K.J. Halbhuber, U. Helmke, G. Geyer, Folia Haematol. **1972**, *97*, 196.
b) J.R. Durocher, R.C. Payne, M.E. Conrad, Blood **1975**, *45*, 196.
c) J.M. Jancik, R. Schauer, K.H. Andres, M. von Dürig, Cell Tissue Res. **1978**, *186*, 209.
- [6] L. Svennerholm, Acta Soc. Med. Upsal. **1956**, *61*, 75.
- [7] B.M. Scheinthal, F.A. Bettelheim, Carbohydr. Res. **1968**, *6*, 257.
- [8] E.G. Brunngraber, in "Neurochemistry of Aminosugars", Springfield, Ill., **1979**.
- [9] L. Svennerholm, in "Structure and Function of Gangliosides", Eds. L. Svennerholm, P. Mandel, H. Dreyfuss, P.F. Urban, Plenum Press, New York, **1980**.
- [10] H.J. Jennings, E. Katzellenbogen, C. Lugowski, F. Michon, R. Roy, D.L. Kasper, Pure Appl. Chem. **1984**, *56*, 893.
- [11] R. Schauer, Trend Biochem. Sci. **1985**, *10*, 357.
- [12] R. Schauer, Biochem. Soc. Trans. **1983**, *11*, 270.
- [13] J.C. Paulson, G.N. Rogers, S.M. Carroll, H.H. Higa, T. Pritchett, G. Milks, S. Sabesan, Pure Appl. Chem. **1984**, *56*, 797.
- [14] G. Ashwell, A.G. Morell, Adv. Enzymol. **1974**, *41*, 99.
- [15] R. Schauer, A.K. Shukla, C. Schröder, E. Müller, Pure Appl. Chem. **1984**, *56*, 907.
- [16] R.S. Blacklow, L. Warren, J. Biol. Chem. **1962**, *237*, 3520.

- [17] R. Brossmer, U. Rose, D. Kasper, T.L. Smith, H. Grassmuk, F.M. Unger, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1980**, *96*, 1282.
- [18] L. Warren, H. Felsenfeld, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1961**, *4*, 232.
- [19] R. Joseph, B.K. Bachhawat, *J. Neurochem.* **1964**, *11*, 517.
- [20] J. Eichberg Jr., M.L. Karnovsky, *J. Biol. Chem.* **1963**, *238*, 3827.
- [21] P.W. Kent, P. Draper, *Biochem. J.* **1968**, *106*, 293.
- [22] G.W. Jourdian, A.L. Swanson, D. Watson, S. Roseman, *J. Biol. Chem.* **1964**, *239*, 2714.
- [23] L. Warren, H. Felsenfeld, *J. Biol. Chem.* **1962**, *237*, 1421.
- [24] R. Heimer, K. Meyer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1956**, *42*, 728.
- [25] D.G. Comb, S. Roseman, *J. Biol. Chem.* **1960**, *235*, 2529.
- [26] M. Biswas, B. Singh, A. Datta, *Biochim. Biophys. Acta* **1979**, *585*, 535.
- [27] H. Faillard, C. Ferreira do Amaral, M. Blohm, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1969**, *350*, 798.
- [28] J.E.G. Barnett, D.L. Corina, G. Rasool, *Biochem. J.* **1971**, *125*, 234.
- [29] G.H. DeVries, S.B. Binkley, *Arch. Biochem. Biophys.* **1972**, *151*, 234.
- [30] P. Brunetti, G.W. Jourdian, S. Roseman, *J. Biol. Chem.* **1962**, *237*, 2447.
- [31] L. Warren, M.E. Glick, *Meth. Enzymol.* **1966**, *8*, 131.
- [32] E. Kean, S. Roseman, *Methods in Enzymology*, Vol. 8, **1966**, 208.
- [33] C. Auge, Ch. Gautheron, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1987**, 859.
- [34] C. Auge, S. David, Ch. Gautheron, A. Veyrieres, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 2439.
- [35] M.D. Bednarski, H.K. Chenault, E.S. Simon, G.M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 1283.
- [36] J.W. Cornforth, M.E. Daines, A. Gottschalk, *Proc. Chem. Soc.* **1957**, 25.
- [37] R. Kuhn, G. Baschang, *Liebigs Ann. Chem.* **1962**, *659*, 156.
- [38] A.Y. Khorlin, I.M. Privalova, *Carbohydr. Res.* **1970**, *13*, 373.
- [39] F. Baumberger, A. Vasella, *Helv. Chim. Acta* **1986**, *69*, 1205.
- [40] M. Hugener, *Diplomarbeit Universität Zürich* **1987**.
- [41] M.J. How, M.D.A. Halford, M. Stacey, E. Vickers, *Carbohydr. Res.* **1969**, *11*, 313.
- [42] L. Holmquist, *Acta Chem. Scand.* **1971**, *25*, 712.
- [43] W. Gielen, *Z. Physiol. Chem.* **1967**, *348*, 329.
- [44] W. Wesemann, F. Zilliken, *Liebigs Ann. Chem.* **1966**, *695*, 209.
- [45] R.L. McLean, M. Sultajit, J. Beidler, R. Winzler, *J. Biol. Chem.* **1971**, *246*, 803.

- [46] J. Villalva, R. Brossmer, Carbohydrates 1984, Abstracts of the XIIth Internat. Carbohydr. Symp. Utrecht, Netherlands, S. 21, 22 und 140.
- [47] H. Mack, R. Brossmer, Tetrahedron Lett. **1987**, 28, 191.
- [48] R. Julina, I. Müller, A. Vasella, R. Wyler, Carbohydr. Res. **1987**, 164, 415.
- [49] M.B. Perry, L. Benzing-Nguyen, J. Org. Chem. **1978**, 43, 551.
- [50] a) J.M. Beau, P. Sinaÿ, Carbohydr. Res. **1978**, 65,1.
b) J.M. Beau, P. Sinaÿ, J.P. Kamerling, J.F.G. Vliegenthart, Carbohydr. Res. **1978**, 67, 65.
c) J.M. Beau, R. Schauer, J. Haverkamp, L. Dorland, J.F.G. Vliegenthart, P. Sinaÿ, Carbohydr. Res. **1980**, 82, 125.
d) J.M. Beau, R. Schauer, Eur. J. Biochem. **1980**, 106, 653.
- [51] F. Paquet, P. Sinaÿ, Tetrahedron Lett. **1984**, 25, 3071.
- [52] S.J. Danishefsky, M.P. DeNinno, J. Org. Chem. **1986**, 51, 2615.
- [53] J. Haverkamp, T. Spoormaker, L. Dorland, J.F.G. Vliegenthart, R. Schauer, J. Am. Chem. Soc. **1979**, 101, 4851.
- [54] N. Sharon, in "Complex Carbohydrates. Their Chemistry, Biosynthesis and Functions", Addison-Wesley, **1975**.
- [55] A. Rosenberg, C.L. Schengrund, in "Biological Roles of Sialic Acid", Plenum Press, New York, **1976**.
- [56] R.G. Spiro, Annu. Rev. Biochem. **1970**, 39, 599.
- [57] S. Roseman, in E. Rossi and E. Stoll (Eds.) "Biochemistry of Glycoproteins and Related Substances", Part 2, Karger, Basel, **1968**, 244.
- [58] T.A. Beyer, J.E. Sadler, J.I. Rearick, J.C. Paulson, R.L. Hill, Adv. Enzymol. **1981**, 52, 23.
- [59] D.H. van den Eijnden, D.H. Joziassse, L. Dorland, H. van Halbeek, J.F.G. Vliegenthart, K. Schmid, Biochem. Biophys. Res. Commun. **1980**, 92, 839.
- [60] S. Sabesan, J.C. Paulson, J. Am. Chem. Soc. **1986**, 108, 2068.
- [61] H. Paulsen, Angew. Chem. **1982**, 94, 184.
- [62] T. Ogawa, H. Yamamoto, T. Nukada, T. Kitaijima, M. Sugimoto, Pure Appl. Chem. **1984**, 56, 779.
- [63] T. Ogawa, M. Sugimoto, Carbohydr. Res. **1985**, 135, C-5.
- [64] M. Sugimoto, T. Ogawa, Glycoconjugate J. **1985**, 2, 5.
- [65] D.J.M. van der Vleugel, F.R. Wassenburg, J.W. Zwicker, J.F.G. Vliegenthart, Carbohydr. Res. **1982**, 104, 221.
- [66] H. Paulsen, H. Tietz, Carbohydr. Res. **1984**, 125, 47.
- [67] R. Kuhn, P. Lutz, D.L. MacDonald, Chem. Ber. **1966**, 99, 611.
- [68] a) H. Paulsen, A. Bünsch, Angew. Chem. **1980**, 92, 929.

- b) H. Paulsen, A. Bünsch, Carbohydr. Res. **1982**, *100*, 143.
- [69] H. Kunz, H. Waldmann, J. Chem. Soc., Chem. Commun. **1985**, 638.
- [70] H. Paulsen, U. von Deesen, Carbohydr. Res. **1986**, *146*, 147.
- [71] M. Sugimoto, M. Numata, K. Koike, Y. Nakahara, T. Ogawa, Carbohydr. Res. **1986**, *156*, C1-C5.
- [72] M. Numata, M. Sugimoto, K. Koike, T. Ogawa, Carbohydr. Res. **1987**, *163*, 209.
- [73] K. Okamoto, T. Kondo, T. Goto, Chem. Lett. **1986**, 1449.
- [74] K. Okamoto, T. Kondo, T. Goto, Bull. Chem. Soc. Jpn, **1987**, *60*, 637.
- [75] a) K. Okamoto, T. Kondo, T. Goto, Tetrahedron Lett. **1986**, *27*, 5229.
b) K. Okamoto, T. Kondo, T. Goto, Tetrahedron Lett. **1986**, *27*, 5233.
- [76] A.P. Corfield, J.C. Michalski, R. Schauer, in "Sialidases and Sialidoses, Perspectives in Inherited Metabolic Diseases", Eds. G. Tettamanti, P. Durand, S. DiDonato, Milano, **1981**, Edi Ermes, Vol. 4.
- [77] H. Noll, T. Aoyagi, J. Orlando, Virology **1962**, *18*, 154.
- [78] W.G. Laver, Virology **1963**, *20*, 251.
- [79] F.M. Burnet, J.D. Stone, Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. **1947**, *25*, 227.
- [80] M. Flashner, J. Kessler, S.W. Tanenbaum, J. Bacteriol. **1982**, *151*, 1630.
- [81] M. Kuriyama, F. Someya, T. Miyatake, M. Kosiki, Biochim. Biophys. Acta **1981**, *662*, 220.
- [82] G. Beauregard, S.B. Melancon, L. Dallaire, M. Potier, Biochim. Biophys. Acta **1980**, *706*, 212.
- [83] L. Warren, C.W. Spearing, Biochem. Biophys. Res. Commun, **1960**, *3*, 489.
- [84] R. Carubelli, R.E. Trucco, R. Caputto, Biochim. Biophys. Acta **1960**, *60*, 196.
- [85] J.F. Tallman, R.O. Brady, Biochim. Biophys. Acta, **1973**, *293*, 434.
- [86] D.R.P. Tulsiani, R.E. Nordquist, R. Carubelli, Exp. Eye Res. **1973**, *15*, 93.
- [87] D. McNamara, G. Beauregard, V. Nguyen Hong, D.L.S. Yan, M. Belise, M. Potier, Biochem. J. **1982**, *205*, 345.
- [88] I.A. Wilson, J.J. Skehel, D.C. Wiley, Nature **1981**, *289*, 368.
- [89] P.M. Colman, C.W. Ward, Curr. Top. Microbiol. Immunol **1985**, *114*, 177.
- [90] P. Meindl, H. Tuppy, Monatsh. Chem. **1965**, *96*, 802.
- [91] A. Khorlin, I. Privalova, L. Zakstelskaya, E. Molibog, N. Evstigneeva, FEBS Lett. **1970**, *8*, 17.
- [92] J. Kessler, J. Heck, S.W. Tanenbaum, M. Flashner, J. Biol. Chem. **1982**, *257*, 5056.

- [93] H.Y. Lai, B. Axelrod, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1973**, *54*, 463.
- [94] H. Friebolin, M. Supp, R. Brossmer, G. Keilich, D. Ziegler, *Angew. Chem.* **1980**, *92*, 200.
- [95] R. Rensch, W. Baumann, H. Friebolin, *J. Carbohydr. Chem.* **1983**, *2*, 415.
- [96] H. Friebolin, W. Baumann, R. Brossmer, G. Keilich, M. Supp, D. Ziegler, H. von Nicolai, *Biochem. Int.*, **1981**, *3*, 321.
- [97] R. Brossmer, G. Bürk, V. Eschenfelder, L. Holmquist, R. Jaeckh, B. Neumann, U. Rose, *Behring Inst. Mitt.* **1974**, *55*, 119.
- [98] R. Brossmer, L. Holmquist, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* **1971**, *352*, 1715.
- [99] H. von Nicolai, P. Esser, E. Lauer, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **1981**, *362*, 153.
- [100] R. Brossmer, E. Nebelin, *FEBS Lett.* **1969**, *4*, 335.
- [101] L. Holmquist, R. Brossmer, *FEBS Lett.* **1972**, *22*, 46.
- [102] A.P. Corfield, R.W. Veh, M. Wember, J.-C. Michalski, R. Schauer, *Biochem. J.* **1981**, *197*, 293.
- [103] P. Meindl, H. Tuppy, *Monatsh. Chem.* **1966**, *97*, 1628.
- [104] D. Nadano, M. Iwasaki, S. Endo, K. Kitajima, S. Inoue, Y. Inoue, *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 11550.
- [105] M. Suttajit, R. J. Winzler, *J. Biol. Chem.* **1971**, *246*, 3398.
- [106] R. Brossmer, L. Holmquist, *FEBS Lett.* **1974**, *40*, 250.
- [107] H.J. Gross, U. Rose, R. Brossmer, *Euro-Carbohydrates 1985, Abstracts of the IIIrd Europ. Symp. on Carbohydrates, Grenoble, France*, **1985**, 250.
- [108] H.S. Conradt, A. Bünsch, R. Brossmer, *FEBS Lett.* **1984**, *170*, 295.
- [109] R. Schauer, in *"Methods in Enzymology"*, Ed. V. Ginsburg, Vol. 138, Part E, Academic Press, **1987**, S. 611.
- [110] L. Warren, *Biochim. Biophys. Acta* **1964**, *83*, 129.
- [111] A.Ya. Khorlin, I.M. Privalova, *Carbohydr. Res.* **1970**, *13*, 373.
- [112] E. Zbiral, H.H. Brandstetter, R. Christian, R. Schauer, *Liebigs Ann. Chem.* **1987**, 781.
- [113] P. Meindl, H. Tuppy, *Monatsh. Chem.* **1969**, *100*, 1295.
- [114] M. Flashner, J. Kessler, S.W. Tanenbaum, *Arch. Biochem. Biophys.* **1983**, *221*, 188.
- [115] L. Holmquist, B. Östman, *FEBS Lett.* **1975**, *60*, 327.
- [116] R. Christian, G. Schulz, H.H. Brandstetter, E. Zbiral, *Carbohydr. Res.* **1987**, *162*, 1.
- [117] A.P. Corfield, M. Sander-Wewer, R.W. Veh, M. Wember, R. Schauer, *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **1986**, *367*, 433.

- [118] J.-M. Beau, R. Schauer, Eur. J. Biochem. **1980**, 106, 531.
- [119] F. Baumberger, Dissertation Universität Zürich, **1987**.
- [120] F. Baumberger, A. Vasella, Helv. Chim. Acta **1986**, 69, 1535.
- [121] H.W. Hagedorn, R. Brossmer, Helv. Chim. Acta **1986**, 69, 2127.
- [122] R. Brossmer, A. Bünsch, H. Mack, U. Rose, J. Villalva, Vilth. Int. Symp. Glycoconjugates, Lund-Ronneby, Sweden **1983**, S. 26.
- [123] V. Kumar, J. Kessler, M.E. Scott, B.H. Patwardhan, S.W. Tanenbaum, M. Flashner, Carbohydr. Res. **1981**, 94, 123.
- [124] V. Kumar, S. W. Tanenbaum, M. Flashner, Carbohydr. Res. **1982**, 103, 281.
- [125] F. Baumberger, A. Vasella, R. Schauer, Helv. Chim. Acta **1988**, 71, 429.
- [126] K Clinch, A. Vasella, R. Schauer, Publikation im Druck, Tetrahedron Lett. **1988**.
- [127] J. Dale, in "Stereochemie und Konformationsanalyse", Verlag Chemie, Weinheim, New York, **1978**.
- [128] H.H. Brandstetter, E. Zbiral, Liebigs Ann. **1983**, 2055.
- [129] V. Kumar, S.W. Tanenbaum, M. Flashner, Carbohydr. Res. **1982**, 101, 155.
- [130] A. Hasegawa, H.G. Fletcher JR., Carbohydr. Res. **1973**, 29, 209.
- [131] A. Claesson, K. Luthman, Acta Chem. Scand. **1982**, B36, 719.
- [132] H. Ogura, H. Fujita, K. Furuhashi, M. Itoh, Y. Shitori, Chem. Pharm. Bull. **1986**, 34, 1479.
- [133] N. Baggett, B.J. Marsden, Carbohydr. Res. **1982**, 110, 11.
- [134] M. Sharma, R.K. Brown, Can. J. Chem. **1966**, 44, 2825.
- [135] L.M. Jackman, S. Sternhell, in "Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry", International Series in Organic Chemistry, Vol. 10, Pergamon Press, Oxford, **1969**, pp. 176.
- [136] R.U. Lemieux, A.R. Morgan, Can. J. Chem. **1965**, 43, 2190.
- [137] R.U. Lemieux, S. Levine, Can. J. Chem. **1964**, 42, 1473.
- [138] J. Thiem, H. Karl, J. Schwentner, Synthesis **1978**, 696.
- [139] a) K. Tatsuta, K. Fujimoto, M. Kinoshita, S. Umezawa, Carbohydr. Res. **1977**, 54, 85.
b) K. Tatsuta et al., J. Am. Chem. Soc. **1977**, 99, 5826.
- [140] H. Arita, N. Ueda, Y. Matsushima, Bull. Chem. Soc. Jpn. **1972**, 45, 567.
- [141] W.P. Neumann, Synthesis **1987**, 665.
- [142] J. Thiem, J. Schwentner, Tetrahedron Lett. **1978**, 459.
- [143] K. Okamoto, T. Kondo, T. Goto, Bull. Chem. Soc. Jpn. **1987**, 60, 631.
- [144] W.C. Still, M. Kahn, A. Mitra, J. Org. Chem. **1978**, 43, 2923.

- [145] E. Pretsch, J. Seibl, W. Simon, T. Clerc in "Tabellen zur Strukturaufklärung Organischer Verbindungen" Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, **1981**.
- [146] H.-O. Kalinowski, S. Berger, S. Braun in "¹³C-NMR-Spektroskopie", Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, **1984**.
- [147] R. Kuhn, P. Lutz, D.L. MacDonald, Chem. Ber. **1966**, 99, 611.
- [148] M.M. Ponpipom, R.L. Bugianesi, T.Y. Shen, Can. J. Chem. **1980**, 58, 214.
- [149] D.J.M. Van Der Vleugel, W.A.R. van Heeswijk, J.F.G. Vliegthart, Carbohydr. Res. **1982**, 102, 121.
- [150] V. Eschenfelder, R. Brossmer, Carbohydr. Res. **1980**, 78, 190.
- [151] E. Zbiral, H.H. Brandstetter, Monatsh. Chem. **1985**, 116, 253.
- [152] H. Paulsen, H. Tietz, Angew. Chem. **1982**, 94, 934.
- [153] J.B. Lambert, A.R. Vagenas, Org. Magn. Reson. **1981**, 17, 265.
- [154] A. Gottschalk, "Glycoproteins: Their Composition, Structure and Function", Vol. 5A, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, **1972**.
- [155] S.K. Gross, M.A. Williams, R.H. McLuer, J. Neurochem. **1980**, 34, 1351.
- [156] H. Friebohn, H. Schmidt, M. Supp, Tetrahedron Lett. **1981**, 22, 5171.
- [157] B. Giese, "Radicals in Organic Synthesis: Formation of Carbon-Carbon Bonds", Pergamon Press, **1986**.
- [158] A.F. Thomas, in "Deuterium Labeling in Organic Chemistry", Appleton-Century-Crofts **1971**, New York, p. 411.
- [159] I.C.P. Smith, in "NMR of Newly Accessible Nuclei", Ed. P. Laszlo, Academic Press **1983**, New York, London, p. 1.
- [160] H.G. Korth, R. Sustmann, J. Dupuis, B. Giese, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, **1986**, 1453.
- [161] H.G. Korth, R. Sustmann, K.S. Gröninger, T. Witzel, B. Giese, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2, **1986**, 1461.
- [162] J. Dupuis, B. Giese, D. Rügge, H. Fischer, H.G. Korth, R. Sustmann, Angew. Chem. **1984**, 96, 887.
- [163] a) B. Giese, J. Dupuis, Tetrahedron Lett. **1984**, 25, 1349.
b) R.M. Adlington, J.E. Baldwin, A. Basak, R.P. Kozyrod, J. Chem. Soc., Chem. Commun. **1983**, 944.
c) F. Baumberger, A. Vasella, Helv. Chim. Acta **1983**, 66, 2210.
d) J.P. Praly, Tetrahedron Lett. **1983**, 24, 3075.
- [164] B.C. Gilbert, M. Trenwith, A.J. Dobbs, J. Chem. Soc., Perkin Trans 2 **1974**, 1772.

- [165] D.H.R. Barton, W. Hartwig, W.B. Motherwell, J. Chem. Soc., Chem. Commun. **1982**, 447.
- [166] H. Redlich, H.J. Neumann, H. Paulsen, Chem. Ber. **1977**, 110, 2911.
- [167] a) R.L. Yates, N.D. Epiotis, F. Bernardi, J. Am. Chem. Soc. **1975**, 95, 6615.
b) Ch.L. Liotta, Tetrahedron Lett. **1975**, 523.
c) W.-D. Stohler, Angew. Chem. **1983**, 95, 642.
- [168] G. Stork, W.N. White, J. Am. Chem. Soc. **1953**, 75, 4119; **1956**, 78, 4609.
- [169] W.G. Dauben, J.S.P. Schwarz, W.K. Hayes, P.D. Hance, J. Am. Chem. Soc. **1960**, 82, 2239.
- [170] persönliche Mitteilung von K. Wallimann, Universität Zürich.
- [171] S.K. Gross, J.E. Evans, V.N. Reinhold, R.H. McLuer, Carbohydr. Res. **1975**, 41, 344.
- [172] Y. Ittah, C.P.J. Glaudemans, Carbohydr. Res. **1981**, 95, 189.
- [173] E.M. Bessel, V.D. Courtenay, A.B. Foster, A. Jones, J.H. Westwood, Eur. J. Cancer **1973**, 9, 463.
- [174] N.F. Taylor, Ciba Found. Symp. **1972**, 215.
- [175] J.E.G. Barnett, Ciba Found. Symp. **1972**, 95.
- [176] J.T. Welch, Tetrahedron **1987**, 43, 3123.
- [177] a) A.W. Baker, A.T. Shulgin, Nature (London) **1965**, 206, 712.
b) S. Doddrell, E. Wenkert, P.V. Demarco, J. Mol. Spec. **1969**, 32, 162.
- [178] M. Sharma, W. Korytnyk, J. Carbohydr. Chem. **1982-83**, 1, 311.
- [179] R. Gantt, S. Millner, S.B. Binkley, Biochem. **1964**, 3, 1952.
- [180] M.N. Sharma, R. Eby, Carbohydr. Res. **1984**, 127, 201.
- [181] P.J. Card, J. Carbohydr. Chem. **1985**, 4, 451.
- [182] L.M. Stock, M.R. Wasielewski, J. Org. Chem. **1970**, 36, 4240.
- [183] A.W.H. Jans, B. Van Arkel, E.M. Osselton, J. Cornelisse, Magn. Reson. Chem. **1985**, 23, 540.
- [184] Y. Girault, M. Rouillard, M. Decouzon, M. Azzaro, J Fluor. Chem. **1984**, 25, 465.
- [185] R. Csuk, B.I. Glänzer, "NMR-Spectroscopy of Fluorinated Monosaccharides", in Adv. Carbohydr. Chem. Biochem., im Druck.
- [186] H. Ogura, K. Furuhata, T. Osawa, S. Toyoshima, M. Ito, Ger. Offen, DE3219209 (1982).
- [187] J. Thiem, B. Schöttmer, Angew. Chem. **1987**, 99, 591.
- [188] I. Lundt, J. Thiem, A. Prahst, J. Org. Chem. **1984**, 49, 3063.
- [189] J. Thiem, M. Gerken, K. Bock, Liebigs Ann. Chem. **1983**, 462.

- [190] H.M. Flowers, Carbohydr. Res. **1975**, *39*, 245.
- [191] D. Beith-Halami, H.M. Flowers, D. Shapiro, Carbohydr. Res. **1967**, *5*, 25.
- [192] H. Paulsen, D. Hadamczyk, W. Kutscher, A. Bünsch, Liebigs Ann. Chem. **1985**, 129.
- [193] C. Heidelberger, R.B. Hurlbert, J. Am. Chem. Soc. **1950** , *72*, 4704.
- [194] H.J. Backer, J.D.H. Homan, Recl. Trav. Chim. Pays-Bas **1939**, *58*, 1048.
- [195] E.B. Brown, W.S. Brey JR, W. Weltner JR, Biochim. Biophys. Acta **1975**, *399*, 124.
- [196] A.K. Bhattacharjee, H. J. Jennings, C.P. Kenny, A. Martin, I.C.P. Smith, J. Biol. Chem. **1975**, *250*, 1926.
- [197] R.W. Myers, R.T. Lee, Y.C. Lee, G.H. Thomas, L.W. Reynolds, U. Uchida, Anal. Biochem. **1980**, *101*, 166.
- [198] M. Hudlicky, J. Org. Chem. **1980**, *45*, 5377.

CURRICULUM VITAE

Am 23. Dezember 1956 wurde ich, Radomir Julina, in meinem Heimatort Vsetin (Tschechoslowakei) geboren. Im August 1969 übersiedelte ich mit meiner Familie aus politischen Gründen in die Schweiz nach Arbon (TG). Nach dem Besuch der Sekundarschule in Arbon trat ich 1972 in die Kantonsschule St.Gallen ein, die ich im Sommer 1977 mit der Maturitätsprüfung (Typus B) abschloss. Im Oktober 1977 erhielt ich das Schweizerische Bürgerrecht und wurde Bürger von Tablat-St.Gallen. Im Wintersemester 1977/78 immatrikulierte ich mich an der Philosophischen Fakultät II der Universität Zürich im Hauptfach Chemie und erlangte im Mai 1983 das Diplom in Organischer Chemie mit dem Nebenfach Informatik. Sowohl die Diplomarbeit als auch die anschliessend begonnene Dissertation entstanden unter der Leitung von Prof. Dr. A. Vasella am Organisch-chemischen Institut der Universität Zürich.

Von Juni 1986 bis Dezember 1987 war ich als Assistent am Organisch-chemischen Institut der Universität Zürich tätig.

Während meines Studiums besuchte ich Vorlesungen und Praktika bei folgenden Dozenten und Lehrbeauftragten:

J.H. Ammeter, E. Batschelet, K. Bauknecht, A. Dreiding, C.H. Eugster, H. Fischer, R. Grauer, J.R. Günter, H.J. Hediger, H. Heimgartner, J. Hertz, M. Hesse, J.R. Huber, M. Karpf, W. Ludwig, R. Marty, V. Meyer, H.R. Oswald, W. von Philipsborn, M. Rey, P. Rüedi, A. Salzer, A. Steiner, B. Thueller, A. Vasella, S. Veprek, M. Viscontini, G. Wagnière, F. Waldner, W.D. Woggon.

April 1988

R. Julina

